P. 3115

Revue Trimestrielle
Tome 27 – Fascicule 4
Décembre 1996

ÉCOLOGIE

ÉCOLOGIE
ÉCOLOGIE
ÉCOLOGIE

29 JAN. 1997

SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ÉCOLOGIE

Association reconnue d'utilité publique

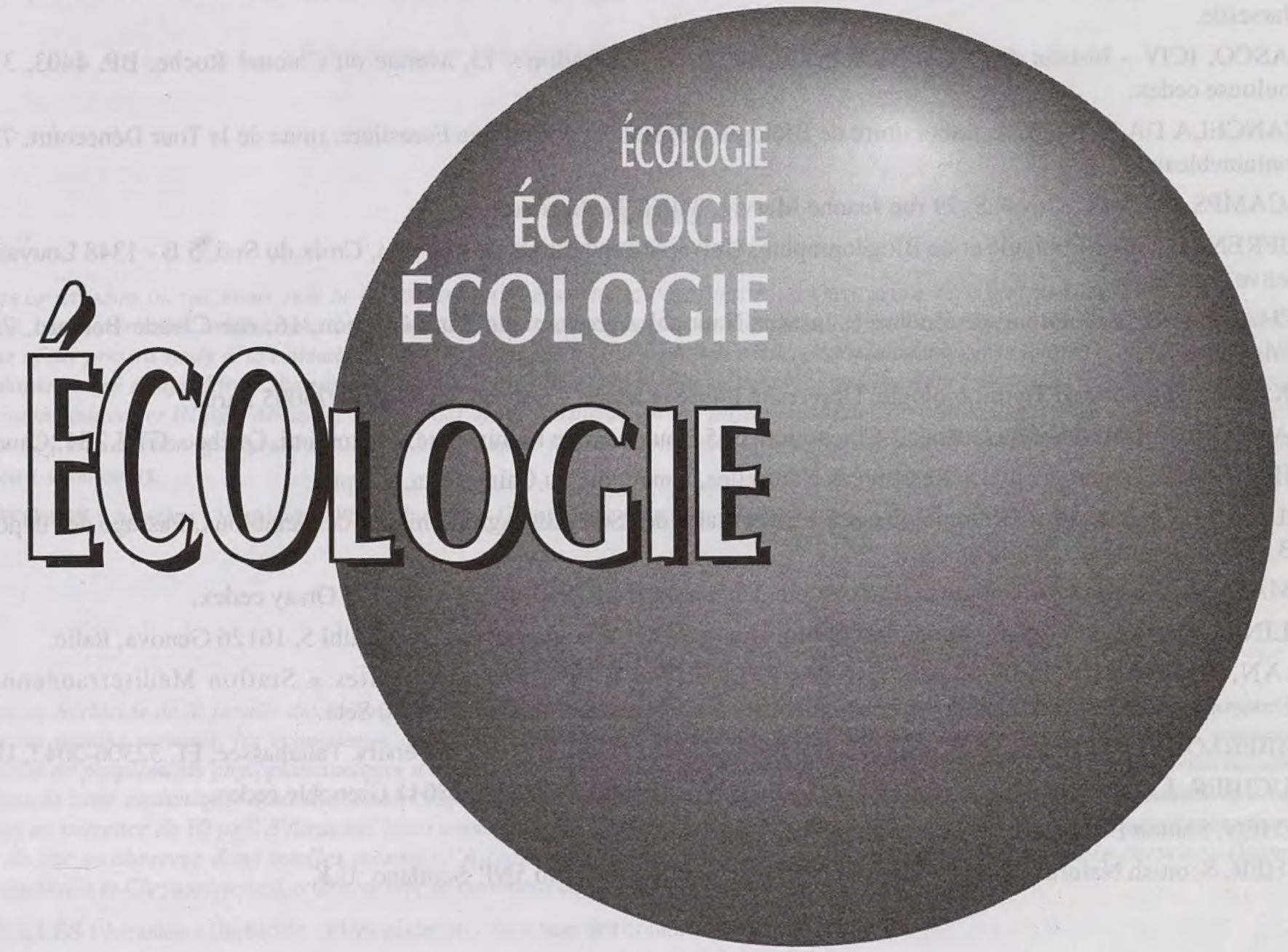
ISSN 1259-5314

Source : MNHN

Source : MNHN

P, 3835

Revue Trimestrielle
Tome 27 – Fascicule 4
Décembre 1996



SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ÉCOLOGIE
Association reconnue d'utilité publique

ISSN 1259-5314

MUSEUM PARIS

Bibliothèque Centrale Muséum
3 3001 00021692 8

Source : MNHN

ÉCOLOGIE

REVUE DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ÉCOLOGIE

COMITÉ ÉDITORIAL

J.-C. AMIARD, Service d'Écotoxicologie, Université de Nantes, 1 rue Gaston Veil, 44035 Nantes Cedex.

F. ATHIAS-BINCHE, Laboratoire Arago, 66650 Banyuls-sur-Mer.

M. BARBERO, Biosystématique et Écologie Méditerranéenne, Université de Provence, case 461 bis, Avenue Escadrille Normandie Niemen, 13397 Marseille cedex 13.

D. BELLAN-SANTINI, Centre d'Océanologie de Marseille, Station Marine d'Endoume, rue Batterie des Lions, 13007 Marseille.

F. BLASCO, ICIV - Institut de la Carte Internationale de la Végétation - 13, avenue du Colonel Roche, BP. 4403, 31405 Toulouse cedex.

J.-P. CANCELA DA FONSECA, Laboratoire de Biologie Végétale et d'Écologie Forestière, route de la Tour Dénecourt, 77300 Fontainebleau.

H. DECAMPS, C.E.R.R., C.N.R.S. 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse cedex.

M. DUFRENE, Unité d'Écologie et de Biogéographie, Université catholique de Louvain, Croix du Sud, 5 B - 1348 Louvain-la-Neuve, Belgique.

M. ECHAUBARD, Laboratoire de Zoologie, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 16, rue Claude Bernard, 75231 Paris cedex 05.

B. ELKAIM, Laboratoire d'Hydriobiologie, Université Pierre et Marie Curie, 12 rue Cuvier, 75005 Paris.

A. FRANCOEUR, Université du Québec à Chicoutimi, 555 Boulevard de l'Université, Chicoutimi, Québec, G7H 2B1, Canada.

S.I. GHABBOUR, Département des Ressources Naturelles, Université du Caire, Giza, Égypte.

F. MALAISSE, Laboratoire d'Écologie, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Passage des déportés, 2B - 5030 Gembloux, Belgique.

F. RAMADE, Laboratoire d'Écologie et de Zoologie, Université Paris-Sud, Bât. 442, 91405 Orsay cedex.

G. RELINI, Universitá di Genova, Laboratori di biologia marina, Ecologia animale, Via Balbi 5, 16126 Genova, Italie.

P. SILAN, UMR-CNRS 5555, « Biologie des Populations d'Helminthes Parasites » Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral, Université de Montpellier II, 1 Quai de la Daurade, 34200 Sète.

D. SIMBERLOFF, 109 Conradi Bldg, dept. of Biological Science, Florida State University, Tallahassee, FL 32306-2043, USA.

B. SOUCHIER, Laboratoire de Biologie Alpine, Université J. Fourier, B.P. 53X, 38041 Grenoble cedex.

P. TREHEN, Station Biologique de Paimpont, 35380 Plélan-le-Grand.

M. USHER, Scottish Natural Heritage, 2 Anderson Place, Edinburgh, EH6 5NP, Scotland, U.K.

ÉDITEUR

P. BLANDIN, Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire d'Écologie Générale,
4, avenue du Petit Château - 91800 Brunoy

COMITÉ DE RÉDACTION

P. BLANDIN, J.-P. CANCELA DA FONSECA, R. DAJOZ, L. PALKA

Muséum National d'Histoire Naturelle,
Laboratoire d'Écologie Générale, 4, avenue du Petit Château - F 91800 Brunoy

Association Loi 1901 - reconnue d'utilité publique - ISSN 1259-5314 – TVA : FR 34 32 60 85 263 - SIRET 32 60 852 63 00019

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 195-201

EFFETS DE L'ATRAZINE SUR L'ÉVOLUTION DES PEUPLEMENTS PHYTOPLANCTONIQUES LACUSTRES - ETUDE EN ENCEINTES EXPÉRIMENTALES *IN SITU**

Annette BÉRARD & Thomas PELTE

INRA, Institut de Limnologie B.P. 511, 74203 Thonon Cedex, France.

SUMMARY
(original scientific paper)

EFFECTS OF ATRAZINE ON THE EVOLUTION OF LACUSTRINE PHYTOPLANKTONIC COMMUNITIES - IN SITU *STUDY WITH EXPERIMENTAL ENCLOSURES.*

Atrazine, a chlorotriazine, inhibits photosynthesis. Aquatic ecosystems may be contaminated by this herbicide through catchment areas. The purpose of the present study is to estimate the effect of Atrazine on the evolution of the phytoplanktonic communities of Lake Geneva. Natural phytoplankton was sampled from the euphotic zone and growth and evolution of the algal species were followed in experimental in situ enclosures contaminated by 10 µg/l Atrazine. The impact of the herbicide on the phytoplanktonic communities was estimated. We observed how Atrazine, by the selection of tolerant taxa (for example some Bacillariophyceae, Cyanophyceae and Chrysophyceae), destructured the phytoplanktonic community.

KEY WORDS : Atrazine - Herbicide - Phytoplankton - Community structure - Interaction.

RÉSUMÉ
(travail original)

L'Atrazine, herbicide de la famille des chlorotriazines ayant pour caractéristique d'inhiber la photosynthèse, est susceptible de contaminer, à travers les bassins versants, les écosystèmes aquatiques. L'étude que nous avons réalisée a pour but d'évaluer l'effet de ce pesticide sur l'évolution de peuplements phytoplanctoniques du lac Léman cultivés en conditions semi-naturelles. A partir d'un phytoplancton naturel prélevé dans la zone euphotique, nous avons suivi expérimentalement, dans des enceintes de 5 litres, la croissance et l'évolution des espèces d'algues en présence de 10 µg/l d'Atrazine. Nous avons pu ainsi évaluer l'impact de l'herbicide sur les peuplements phytoplanctoniques naturels du lac et observer dans quelles mesures l'Atrazine, en sélectionnant des taxons tolérants (par exemple certaines Diatomées, Cyanobactéries et Chrysophycées), a déstructuré la communauté phytoplanctonique.

MOTS CLÉS : Atrazine - Herbicide - Phytoplancton - Structure des communautés - Interaction.

INTRODUCTION

L'Atrazine est un herbicide de la famille des chlorotriazines qui agit par inhibition de la photosynthèse au niveau du photosystème II, en bloquant le transfert d'électrons nécessaire à la réaction de Hill (DUCRUET, 1991). Devenu l'un des herbicides les plus utilisés par les agriculteurs, l'Atrazine est susceptible de contaminer les milieux aquatiques à partir des bassins versants. Considérant l'effet polluant de cet herbicide sur les milieux aquatiques, de nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer l'impact de l'Atrazine sur le phytoplancton. La sensibilité des algues microscopiques a été observée dans certains cas pour des concentrations de 1 µg/l (HERMAN *et al.*, 1986). Elle se traduit par une nette diminution de la fixation du carbone (DE NOYELLES *et al.*, 1982 ; HERMAN *et al.*, 1986 ; HAMILTON *et al.*, 1988), une réduction de la croissance des algues (SHEHATA *et al.*, 1993), une destruction de la chlorophylle (TISSUT & SEVERIN, 1984 ; HAMALA & KOLLIGT, 1985 ; HERMAN *et al.*, 1986), une diminution de la biomasse, du nombre d'espèces et de la diversité (HAMALA &

* Manuscrit reçu le 19 janvier 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 28 mars 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

KOLLIGT, 1985 ; HERMAN *et al.*, 1986 ; HAMILTON *et al.*, 1988 ; SHEHATA *et al.*, 1993). Toutes ces études rapportent en particulier les effets de l'Atrazine sur les mécanismes biologiques et physiologiques des algues. L'influence de cet herbicide sur l'évolution et les interactions des peuplements phytoplanctoniques naturels a été jusqu'à présent assez peu étudiée. Le but de notre étude est d'évaluer les perturbations que l'Atrazine pourrait induire au niveau des communautés phytoplanctoniques lacustres au cours des successions saisonnières (printemps, été).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expérimentations sont réalisées dans des enceintes de 5 litres en Pyrex comprenant 2,5 l d'inoculum et 2,5 l de milieu. L'inoculum phytoplanctonique consiste en une suspension de phytoplancton prélevée dans la zone euphotique du lac de Genève. Le zooplancton de grande taille est éliminé par filtration à travers un filet de 200 µm de maille et le zooplancton de taille inférieure à 200 µm est tué par bullage à l'azote pendant une heure ; la désoxygénation tue le zooplancton mais ne perturbe pas le phytoplancton (SOMMER, 1985) ; une expérimentation préliminaire avec un inoculum désoxygéné par bullage à l'azote et un inoculum non désoxygéné a montré que le paramètre bullage à l'azote n'influençe pas la croissance du phytoplancton.

Le milieu de culture est composé d'eau filtrée à travers une maille de 0,8 µm ; cette eau provient de la même zone de prélèvement que l'inoculum.

Les enceintes de 5 litres contenant l'inoculum et le milieu sont installées dans une partie abritée du lac Léman à une profondeur de 1 m sous la surface. Les conditions d'éclairement et de température sont celles du milieu naturel, la température de l'eau est suivie en continu (fréquence des mesures : 20 minutes) par un thermomètre immergé dont les données sont recueillies et converties par un héxaparamètre (Ponselle) et stockées pendant la durée de l'expérimentation dans une unité enregistreuse (CR2M) ; ces données sont ensuite transférées sur un ordinateur portable et traitées par informatique. Les enceintes sont équipées d'un dispositif (bouchon silicone et tuyaux en verre et silicone) les isolant du lac tout en permettant des prélèvements et une aération de la culture, afin de fournir aux algues du CO_2 et de provoquer une agitation continue du milieu. Ceci permet d'homogénéiser et d'éviter la sédimentation des organismes cultivés.

Après un premier prélèvement, cinq enceintes reçoivent 10 µg/l d'Atrazine (98 % - Greyhound/Chem Service, U.K.) dissous dans du "milieu" et cinq enceintes sont conservées comme témoins. Cette dose d'Atrazine correspond à une forte contamination, qui existe cependant de manière ponctuelle en milieu naturel (69 µg/l d'Atrazine dans l'Ontario d'après DE NOYELLES *et al.*, 1982). C'est une dose généralement dix fois plus faible que celle utilisée dans la plupart des travaux réalisés sur cet herbicide (HAMALA & KOLLIGT, 1985 ; HERMAN *et al.*, 1986 ; HAMILTON *et al.*, 1988). Mais elle est susceptible d'avoir un effet sur le phytoplancton (DE NOYELLES *et al.*, 1982 ; PRATT *et al.*, 1988 ; LAMPERT *et al.*, 1989).

La durée des expérimentations est de 21 jours ; la phase de croissance maximale du phytoplancton est alors dépassée. Des prélèvements de 20 ml d'eau dans chaque enceinte sont réalisés quotidiennement. La concentration en chlorophylle a est estimée par une mesure de fluorescence *in vivo* (Fluorimètre Turner). Une gamme étalon entre indice de fluorescence (IF) et chlorophylle a est réalisée à la fin de chaque expérimentation. Les dénombrements cellulaires de trois réplicats sont effectués en début d'expérimentation, une ou deux fois au cours de l'expérimentation et à la fin de celle-ci. Les échantillons de 50 ml prélevés dans les enceintes sont immédiatement fixés au lugol, puis mis à sédimenter dans des chambres d'Utermöhl et dénombrés à l'aide d'un microscope inversé (Axiovert 35 Zeiss). Au minimum 400 cellules sont dénombrées par espèce dominante dans chaque échantillon ce qui devrait donner une précision de 10 % si les algues sont réparties de manière aléatoire (LUND *et al.*, 1958).

Le test de comparaison des moyennes de Student est utilisé pour l'analyse de la chlorophylle a estimée avec une précision de 95 %. Pour l'analyse de la structure des peuplements phytoplanctoniques, la densité de chaque espèce présente dans les peuplements contaminés par l'Atrazine est comparée au témoin grâce au test non-paramétrique des rangs de Mann-Whitney.

RÉSULTATS

Deux expérimentations ont été réalisées au cours du printemps et de l'été 1995.

Les résultats de l'expérimentation d'avril 1995 présentent une faible augmentation de la chlorophylle a estimée au cours du temps (FIG. 1A). Les enceintes ayant reçu l'Atrazine montrent systématiquement une valeur moyenne de la chlorophylle a supérieure à celle des enceintes témoins, en particulier entre les jours 16 et 19, mais la variabilité des résultats entre réplicats ne permet pas de confirmer de manière significative cette tendance.

En revanche, l'évolution des deux espèces *Fragilaria crotonensis* et *Asterionella formosa* est différente entre les enceintes témoins et celles ayant reçu l'Atrazine (Fig. 2). Ces deux diatomées se développent dans les enceintes traitées alors que leurs densités augmentent peu dans les enceintes témoins.

Au cours de l'expérimentation de juin 1995, on observe un développement important de la chlorophylle

Source : MNHN

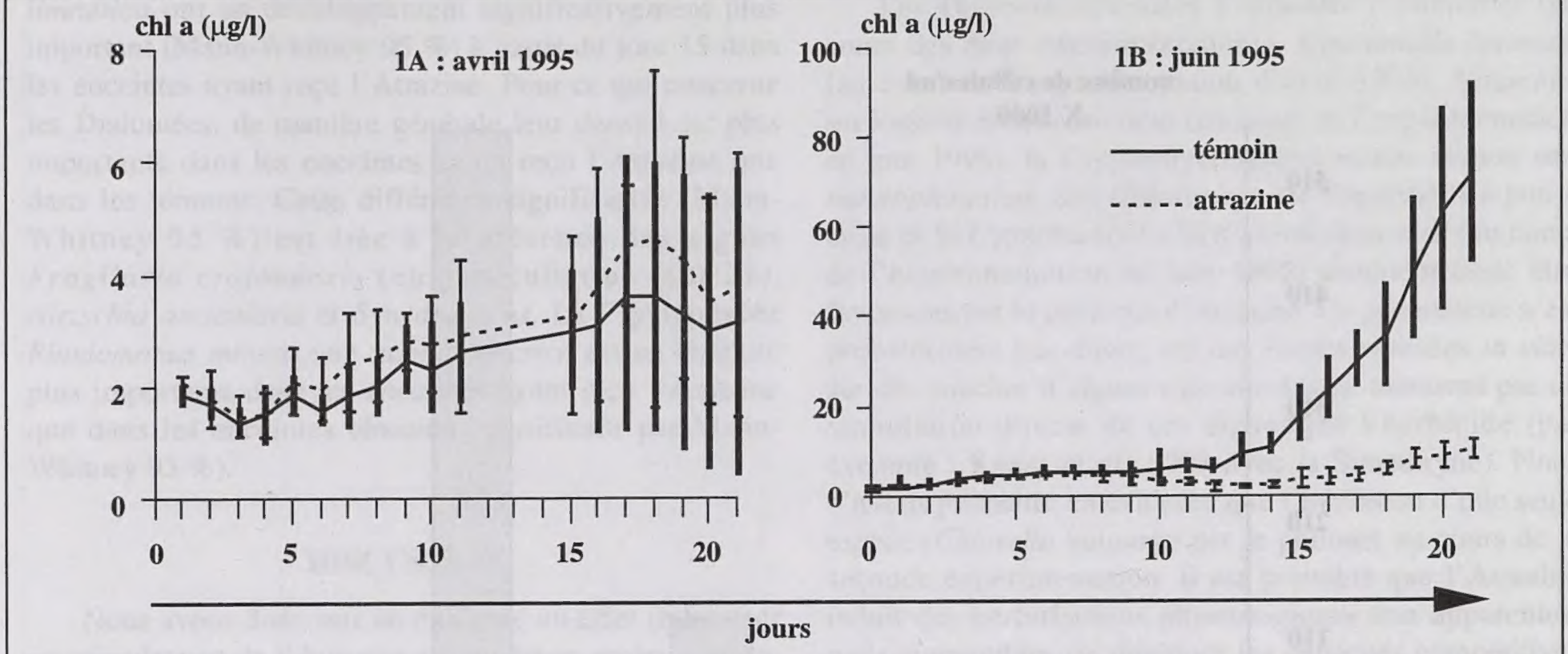


FIG. 1.– Évolution de la chlorophylle a au cours de la première expérimentation -1A (avril 1995)- et de la seconde expérimentation -1B (juin 1995)- moyenne de 5 échantillons, intervalle de confiance avec t de Student à 95 %.

Evolution of chlorophyll a during the first experiment -1A (april 1995)- and second experiment -1B (june 1995)- mean of 5 samples, error bars with Student t at 95 %.

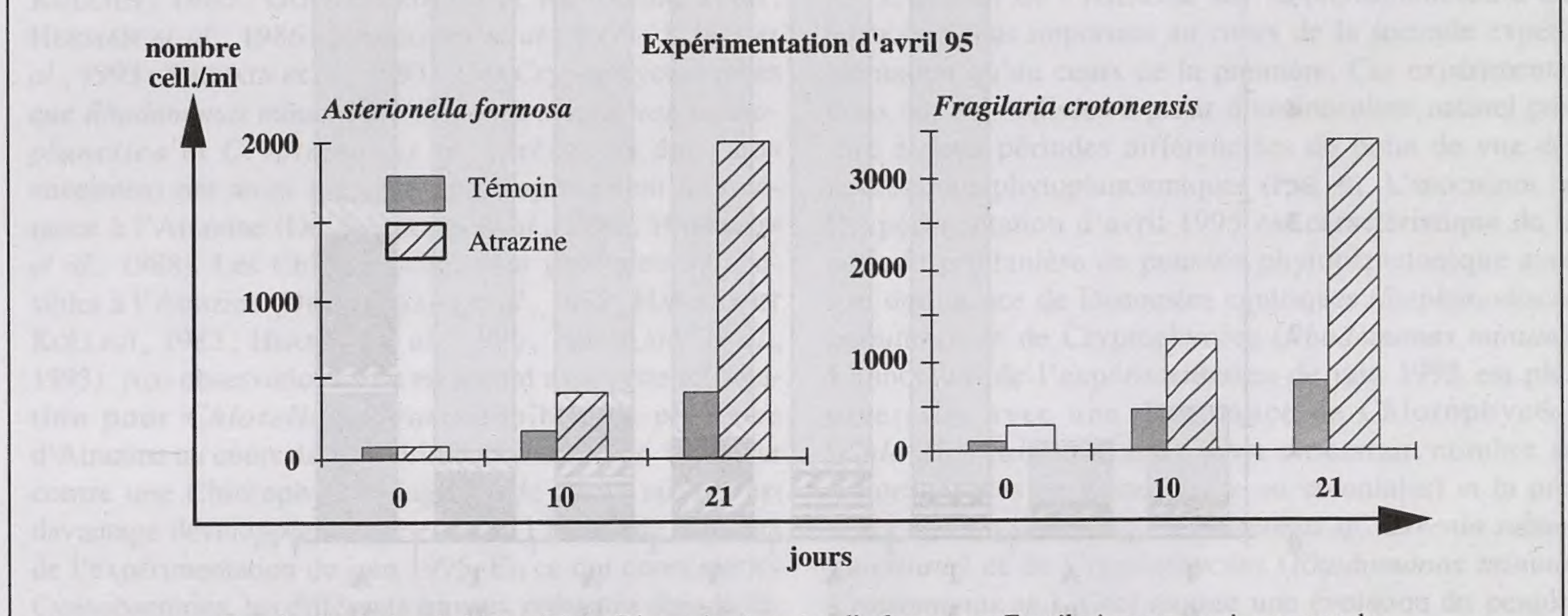


FIG. 2.– Evolution de la densité des Diatomées *Asterionella formosa* et *Fragilaria crotonensis* au cours de l'expérimentation d'avril 1995 (moyenne de 4 échantillons dénombrés).

Evolution of the density of Diatoms Asterionella formosa *and* Fragilaria crotonensis *during the april 1995 experiment (mean of 4 samples).*

(a) estimée dans les enceintes témoins à partir du jour 13 qui atteint une valeur de 72 µg Chl a/l au jour 21 (Fig. 1B), alors que dans les enceintes ayant reçu de l'Atrazine la valeur de chlorophylle (a) reste significativement moins importante (Student 95 %), ne dépassant pas les 10 µg/l. Cette chlorophylle paraît même diminuer entre les jours 8 et 15 pour augmenter à nouveau jusqu'au jour 21. Quatre suivis taxonomiques ont été réalisés au cours de cette expérimentation et montrent des résultats différents entre les enceintes témoins et celles ayant reçu l'Atrazine (FIG. 3). On constate un développement intense de l'algue *Chlorella vulgaris* dans les enceintes, particulièrement dans les témoins alors que ce développement est beaucoup plus faible dans les enceintes traitées par l'Atrazine en particulier au jour 15 (significatif par Mann-Whitney 95 %). A l'opposé, d'autres Chlorophycées flagellées de petite taille (non déterminées au niveau de l'espèce) ainsi que la Cyanobactérie *Oscillatoria*

Source : MNHN

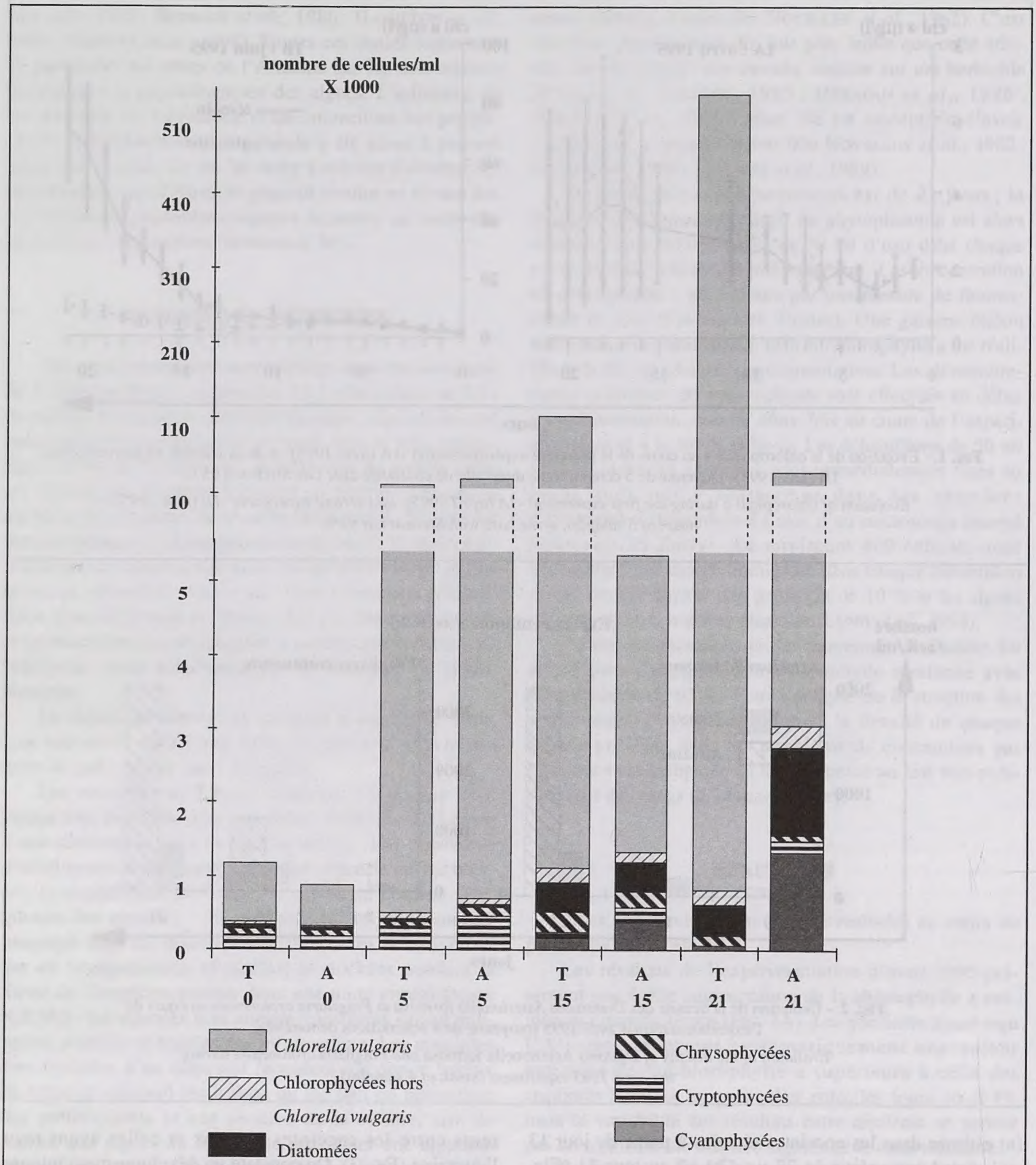


FIG. 3.– Composition taxonomique des peuplements au cours de l'expérimentation de juin 1995 (moyenne de 4 échantillons) ; T = enceinte témoin, A = enceinte contaminée par l'Atrazine.

Taxonomic composition of communities during the June 1995 experiment (mean of 4 samples); t = control enclosure, A = contaminated enclosure.

Source : MNHN

limnetica ont un développement significativement plus important (Mann-Whitney 95 %) à partir du jour 15 dans les enceintes ayant reçu l'Atrazine. Pour ce qui concerne les Diatomées, de manière générale leur densité est plus importante dans les enceintes ayant reçu l'Atrazine que dans les témoins. Cette différence significative (Mann-Whitney 95 %) est liée à la présence des algues *Fragilaria crotonensis* (en particulier au jour 21), *Nitzschia ascicularis* et *Synedra acus*. La Cryptophycée *Rhodomonas minuta var. nannoplanctica* est en quantité plus importante dans les enceintes ayant reçu l'Atrazine que dans les enceintes témoins (significatif par Mann-Whitney 95 %).

DISCUSSION

Nous avons donc mis en évidence un effet (inhibiteur ou stimulateur) de l'Atrazine sur quelques espèces phytoplanctoniques, certains de ces résultats sont confirmés par la littérature. Ainsi, certains auteurs ont observé une tolérance des Diatomées aux triazines à faibles concentrations ou un comportement d'adaptation au polluant après plusieurs jours (De Noyelles *et al.*, 1982 ; Hamala & Kolligt, 1985 ; Goldsborough & Robinson, 1986 ; Herman *et al.*, 1986 ; Hoagland *et al.*, 1993 ; Kasai *et al.*, 1993 ; Shehata *et al.*, 1993). Des Cryptophycées telles que *Rhodomonas minuta, Rhodomonas minuta var. nannoplanctica* et *Cryptomonas sp.* (présentes dans nos enceintes) ont aussi présenté un comportement de tolérance à l'Atrazine (De Noyelles *et al.*, 1982 ; Hamilton *et al.*, 1988). Les Chlorophycées sont généralement sensibles à l'Atrazine (De Noyelles *et al.*, 1982 ; Hamala et Kolligt, 1985 ; Herman *et al.*, 1986 ; Hoagland *et al.*, 1993). Nos observations sont en accord avec cette affirmation pour *Chlorella vulgaris* inhibée en présence d'Atrazine au cours de l'expérimentation de juin 1995. Par contre une Chlorophycée flagellée de petite taille s'est davantage développée en présence de l'herbicide au cours de l'expérimentation de juin 1995. En ce qui concerne les Cyanobactéries, les différents travaux présentés dans la littérature rapportent des comportements beaucoup plus variables selon les espèces et les expérimentations. Il n'y a pas d'informations à notre connaissance sur la réaction d'*Oscillatoria limnetica* vis-à-vis de l'Atrazine. Cependant cette Cyanobactérie a la capacité de n'utiliser que le photosystème I pour sa croissance dans des conditions particulières de stress (Belkin & Padan, 1978). L'Atrazine n'inhibe que le photosystème II. Des tests en laboratoire devraient nous permettre d'attribuer la tolérance à l'Atrazine d'*Oscillatoria limnetica* soit à ce comportement photosynthétique anoxygénique, soit à une autre forme d'adaptation de l'algue à l'herbicide (inactivation ou dégradation de l'Atrazine, modification du comportement physiologique de l'algue).

Les Diatomées pennées *Fragilaria crotonensis* (au cours des deux expérimentations), *Asterionella formosa* (au cours de l'expérimentation d'avril 1995), *Nitzschia ascicularis* et *Synedra acus* (au cours de l'expérimentation de juin 1995), la Cryptophycée *Rhodomonas minuta var. nannoplanctica,* des Chlorophycées flagellées de petite taille et la Cyanobactérie *Oscillatoria limnetica* (au cours de l'expérimentation de juin 1995) semblent donc être favorisées par la présence d'Atrazine. Ce phénomène n'est probablement pas direct, car des études réalisées *in vitro* sur des souches d'algues équivalentes ne montrent pas de stimulation directe de ces algues par l'herbicide (par exemple : Kasai *et al.*, 1993 avec la Simethryne). Nous n'avons pu mettre en évidence que l'inhibition d'une seule espèce (*Chlorella vulgaris*) par le polluant au cours de la seconde expérimentation. Il est probable que l'Atrazine induit des perturbations physiologiques non apparentes, mais susceptibles de diminuer les capacités compétitives des espèces les plus sensibles et de favoriser indirectement le développement d'espèces plus tolérantes au polluant. La stimulation de certaines algues est vraisemblablement une conséquence de la perturbation des interactions entre espèces phytoplanctoniques, provoquée par le polluant.

L'impact de l'Atrazine sur le phytoplancton a été beaucoup plus important au cours de la seconde expérimentation qu'au cours de la première. Ces expérimentations ont été réalisées à partir d'un inoculum naturel prélevé à deux périodes différenciées du point de vue des successions phytoplanctoniques (Fig. 4). L'inoculum de l'expérimentation d'avril 1995 est caractéristique de la période printanière de poussée phytoplanctonique avec une dominance de Diatomées centriques *(Stephanodiscus minutulus)* et de Cryptophycées (*Rhodomonas minuta*). L'inoculum de l'expérimentation de juin 1995 est plus diversifié avec une dominance de Chlorophycées (*Chlorella vulgaris*, mais aussi un certain nombre de Chlorophycées de grande taille ou coloniales) et la présence de Chrysophycées (*Ochromonas sp., Erkenia subaequiciliata*) et de Cryptophycées (*Rhodomonas minuta, Cryptomonas sp.*). Ceci montre une évolution du peuplement phytoplanctonique caractéristique d'une fin de printemps (Amblard, 1987 ; Sommer, 1986 ; Gawler *et al.*, 1988 ; Sommer, 1989).

L'impact de l'Atrazine sur le phytoplancton semble donc dépendre de la composition de celui-ci au moment de l'exposition au polluant, cette composition phytoplanctonique étant elle-même dépendante des successions planctoniques dans le lac. Des observations similaires ont été rapportées par Herman *et al.* (1986) sur du périphyton en enceintes et par Fleckner (1991) sur des communautés naturelles planctoniques en enceinte *in situ*. L'impact plus faible sur le plancton (voire la stimulation) au cours de la première expérimentation s'explique par la présence de Diatomées et de Cryptophycées connues pour être tolé-

Source : MNHN

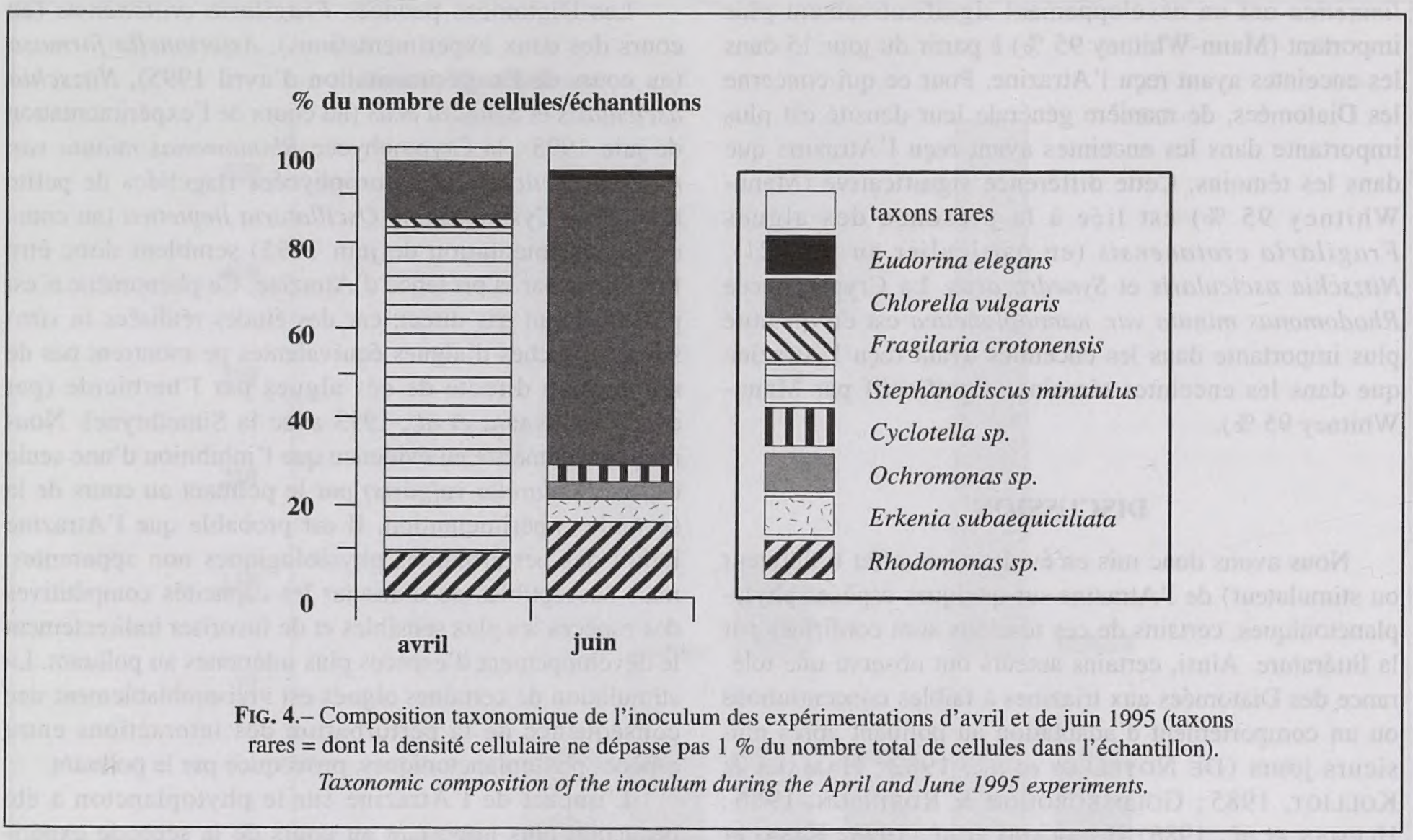


FIG. 4.– Composition taxonomique de l'inoculum des expérimentations d'avril et de juin 1995 (taxons rares = dont la densité cellulaire ne dépasse pas 1 % du nombre total de cellules dans l'échantillon).

Taxonomic composition of the inoculum during the April and June 1995 experiments.

rantes à l'Atrazine, alors que les Chlorophycées dominantes au début de la seconde expérimentation présentent une sensibilité nette à l'Atrazine. Il semble donc que les communautés algales caractérisant le développement phytoplanctonique du printemps résistent mieux à un apport d'Atrazine que les communautés algales estivales. Une seconde hypothèse serait que l'impact de l'Atrazine sur le phytoplancton dépendait de la température et de l'intensité de la lumière comme cela a été démontré *in vitro* par MAYASICH *et al.* (1986) sur deux souches d'algues. La température moyenne et les variations jour/nuit mesurées au cours de l'expérimentation d'avril étaient inférieures (7 °C) à celles de l'expérimentation de juin (15 °C). Il est probable que ces différents paramètres (composition des communautés phytoplanctoniques, température et lumière au moment de l'exposition au polluant) soient étroitement liés dans leur action vis-à-vis du rôle toxique de l'herbicide.

Ces premiers résultats, à confirmer par des expérimentations complémentaires, démontrent l'importance de la variable temps dans l'étude de l'impact d'un polluant sur les écosystèmes naturels.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Jean-Claude DRUART pour ses conseils techniques et son expérience en systématique du phytoplancton, ainsi que Mauricette FEUILLADE pour ses critiques constructives et ses encouragements.

BIBLIOGRAPHIE

AMBLARD, C., 1987.– Les successions phytoplanctoniques en milieu lacustre. *Ann. Biol.,* XXVI, 1 : 1-34.

BELKIN, S. & PADAN, E., 1988.– Hydrogen metabolism in the falcutative anoxygenic cyanobacteria (blue-green algae) *Oscillatoria limnetica* and *Aphanothece halophytica*. *Arch. Microbiol.*, 116 : 109-111.

DE NOYELLES, F., DEAN KETTLE, W. & SINN, D.E., 1982.– The responses of plankton communities in experimental ponds to Atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. *Ecology*, 63 (5) : 1285-1293.

DUCRUET, J.M., 1991.– Les herbicides inhibiteurs du photosystème II. *In :* INRA (eds), *Les herbicides, mode d'action et principes d'utilisation*. INRA, Paris : 79-114.

FLECKNER, W., 1991.– Effects of herbicides on target and non-target organisms in aquatic systems. *Verh. Internat. Verein. Limnol.,* 24 : 22-76.

GAWLER, M., BALVAY, G., BLANC, P., DRUART, J.C. & PELLETIER, J., 1988.– Plankton ecology of Lake Geneva : a test of the PEG-model. *Arch. Hydrobiol.,* 114 (2) : 161-174.

GOLDSBOROUGH, L.G. & ROBINSON, G.G.C., 1986.– Changes in periphytic algal community structure as a consequence of short herbicide exposures. *Hydobiologia*, 139 : 177-192.

HAMALA, J.A. & KOLLIGT, H.P., 1985.– The effects of Atrazine on periphyton communities in controled laboratory ecosystems. *Chemosphere*, 14 (1) : 1391-1408.

HAMILTON, P.B., JACKSON, G.S., KAUSHIK, N.K., SOLOMON, K.R. & STEPHENSON, G.L., 1988.– The impact of two applications of Atrazine on the plankton communities of *in situ* enclosures. *Aquat. Toxic.,* 13 : 123-140.

HERMAN, D., KAUSHIK, N.K. & SOLOMON, K.R., 1986.–

Source : MNHN

Impact of Atrazine on periphyton in freshwater enclosures and some ecological consequences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43 : 1917-1925.

HOAGLAND, K.D., DRENNER, R.W., SMITH, J.D. & CROSS, D.R., 1993.– Freshwater community responses to mixtures of agricultural pesticides : effects of Atrazine and Bifenthrin. *Environmental Toxicology and Chemistry,* 12 : 627-637.

KASAI, F, TAKAMURA, N. & HATAKEYAMA, S., 1993.– Effects of Simetryne on growth of various freshwater algal taxa. *Environmental Pollution*, 79 : 77-83.

LAMPERT, W., FLECKNER, W., POTT, E., SCHOBER, U. & STÖRKEL, K.U., 1989.– Herbicide effects on planktonic systems of different complexity. *Hydrobiologia*, 188/189 : 415-424.

LUND, J.W., KIPLING, C. & LE CREN, E.D., 1958.– The inverted microscope method estimating algal numbers and statistical basis estimations by counting. *Hydrobiologia,* 11 : 143-170.

MAYASICH, J.M., KARLANDER, E.P. & TERLIZZI, JR.D.E., 1986.– Growth responses of NANNOCHLORIS OCULATA Droop and *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin to the herbicide Atrazine as influenced by ligth intensity and temperature. *Aquat. Toxicol.*, 8 : 175-184.

PRATT, J.R., BOWERS, N.J., NIEDERLEHNER, B.R. & CAIRNS, J., 1988.– Effects of Atrazine on freshwater microbial communities. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 17 : 449-457.

SHEHATA, S.A., EL-DIB, M.A. & ABOU-WALY, H.F., 1993.– Effect of triazine compounds on freshwater algae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 50 : 369-376.

SOMMER, U., 1985.– Comparison between steady state and non-steady state competition : Experiments with natural phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 30 (2) : 335-346.

SOMMER, U., 1986.– The periodicity of phytoplankton in the Lake Constance (Bodensee) in comparison to other deep lakes of central Europe. *Hydrobiologia*, 138 : 1-7.

SOMMER, U., 1989.– Toward a Darwinian Ecology of Plankton. *In :* SOMMER U. (eds), *Plankton Ecology, Successions in plankton communities*. Springer-Verlag, Berlin : 1-8.

TISSUT, M. & SEVERIN, F., 1984.– Plantes, herbicides et desherbage, *Acta* 1984 : 128-131.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

Introduction

Atrazine is an herbicide which inhibits photosynthesis. Aquatic ecosystems may be polluted by this pesticide. Many studies have shown the impacts of this herbicide on the phytoplankton : decrease of the carbon assimilation rate, decrease of the phytoplankton growth rate, chlorophyll destruction, decrease of the algal biomass, decrease of the number of species and their diversity. The purpose of our study is to estimate the effect of Atrazine on the structure of phytoplanktonic communities.

Material and methods

Natural phytoplankton sampled from the euphotic area of lake Geneva were kept in natural water contained in five liter Pyrex enclosures. Five enclosures were used as controls and five others received Atrazine (10 µg/l). All were placed under natural conditions of light and temperature. Evolution of the algal biomass was followed daily by *in vivo* fluorescence measurements. Evolution of the structure of the communities was followed by algal counts at the beginning, in the middle and at the end of each experiment.

Results and discussion

Two experiments were conducted in April and June 1995. In April, no difference in the evolution of the total algal biomass was noted between control enclosures and contaminated enclosures (FIG. 1A), but two Diatoms, *Fragilaria crotonensis* and *Asterionella formosa*, displayed higher development in the presence of Atrazine (FIG. 2). In June, phytoplanktonic algal biomass increased in the control enclosures while development was inhibited in the contaminated enclosures (FIG. 1B). During this experiment, population number of the Chlorophyceae *Chlorella vulgaris* were significantly higher in the control than in the contaminated enclosures. On the other hand, an undetermined Chlorophyceae, the Cyanobacteria *Oscillatoria limnetica,* the Cryptophyceae *Rhodomonas minuta* var. *nannoplanctica* and the Diatoms *Nitzschia ascicularis, Fragilaria crotonensis* and *Synedra acus* were significantly more numerous in the presence of Atrazine.

In conclusion, we showed an inhibiting effect of the Atrazine on *Chlorella vulgaris* and a stimulating effect of this herbicide on the development of a few phytoplanktonic species. Numerous studies have shown that these species are tolerant to Atrazine. The increase of the algal populations with Atrazine could be the result of the herbicide-induced perturbations of interspecific interactions, the tolerant species taking advantage of the sensitive species' inability to develop. The algal communities used in this study are different in the two experiments (FIG. 4). The first one (April) is characteristic of a spring phytoplanktonic community. The second one (June) is more diversified. It is closely related to the summer phytoplanktonic community. The impact of Atrazine seems to depend on the composition of the phytoplanktonic community. The spring communities seem to be more tolerant to Atrazine than the summer communities.

Source : MNHN

Source : MNHN

Ecologie, t. 27 (4) 1996 : 203-214

ASSIMILATION ET STOCKAGE DU PHOSPHORE PAR DES MACROPHYTES AQUATIQUES BIOINDICATEURS DU NIVEAU TROPHIQUE DE L'EAU

Fabienne ROBACH, Stéphanie MERLIN, Thierry ROLLAND & Michèle TRÉMOLIÈRES

CEREG, IFARE, Université Louis Pasteur, Laboratoire de Botanique et d'Écologie Végétale, Institut de Botanique, 28 rue Goethe, 67083 Strasbourg, France.

SUMMARY
(original scientific paper)

ECOPHYSIOLOGICAL APPROACH OF WATER QUALITY BIOINDICATION USING AQUATIC PLANT MATERIALS: THE ROLE OF PHOSPHORUS.
Studies have demonstrated the existence of a convergence in the organization of the aquatic plant communities and nutrient contents ($P\text{-}PO_4^{3-}$, $N\text{-}NH_4^+$) of open water. In order to study the role of open water in supplying phosphorus to aquatic macrophytes, we conducted an analysis of foliar P in14 aquatic plant species growing in running waters, in relation to the water trophic status. We showed: 1) an important variability of foliar P levels in space and time across aquatic plant species; 2) higher intraspecific variability (in space and time) and higher levels of foliar P in eutrophic species than in oligotrophic species; 3) a strong relationship between the annual mean of foliar P levels of four macrophytes and the annual mean of soluble reactive phosphorus (SRP) of open water. Phosphorus uptake by shoot and root systems was also approached in the laboratory, where root and shoot portions of Elodea nuttallii *were immersed in separate compatments. We showed that: 1)* E. nuttallii *can absorb P through shoots and roots, or trough shoots alone; 2) shoot P uptake is lower when the plant is immersed in sediment; 3) Shoot P uptake is related to the SRP concentration of water, whether the plant is rooted or not.*

KEY WORDS : Aquatic macrophytes - Bioindication - Eutrophication - Phosphorus - Shoot uptake.

RÉSUMÉ
(travail original)

Il existe une relation étroite, actuellement bien démontrée, entre le degré trophique de l'eau ($P\text{-}PO_4^{3-}$ et $N\text{-}NH_4^+$ essentiellement) et la composition de la végétation aquatique des systèmes d'eau courante. Afin de préciser le rôle du compartiment aqueux dans la nutrition phosphorée des macrophytes aquatiques, nous avons analysé en fonction du degré trophique du compartiment aqueux, les quantités de phosphore stocké dans les organes foliaires d'une quinzaine d'espèces aquatiques présentes dans le réseau hydrographique de la plaine du Rhin en Alsace. Nous montrons : 1) une très grande variabilité spatiale et temporelle des teneurs en P foliaire pour chaque espèce, 2) les plantes inféodées aux milieux oligotrophes présentent des teneurs significativement plus faibles que celles croissant dans des milieux mésotrophes ou eutrophes, 3) l'existence d'une relation de type hyperbolique entre les valeurs moyennes de P foliaire de quatre macrophytes aquatiques et la charge phosphatée (moyenne annuelle) de l'eau. D'autre part, la variabilité intra-spécifique (spatiale et temporelle) des teneurs en P foliaire est plus importante pour les plantes de milieux eutrophes que pour les plantes inféodées aux milieux oligotrophes ou mésotrophes.
*Ces résultats ont été complétés par des études expérimentales du transfert de phosphore entre la plante (*Elodea nuttallii*), l'eau et/ou le sédiment en conditions contrôlées de laboratoire. Elles révèlent que : 1)* Elodea nuttallii *est capable de prélever du P exclusivement à partir de la phase aqueuse ; 2) l'absorption du phosphore à partir de la phase aqueuse est plus faible quand la plante est enracinée, et 3) dépend de la charge phosphatée de l'eau, que la plante soit enracinée ou non.*

MOTS CLÉS : Absorption foliaire - Bioindication - Eutrophisation - Macrophytes aquatiques - Phosphore.

INTRODUCTION

Les macrophytes aquatiques enracinés et immergés présentent la particularité de disposer de deux sources de nutriments : le compartiment aqueux dans lequel ils sont immergés et le compartiment sédimentaire dans lequel ils plongent leurs racines. L'absorption de nutriments, qu'elle soit foliaire ou racinaire, dépend donc de la qualité physico-chimique en général, et du statut trophique en particulier, de ces deux compartiments (DENNY, 1972, 1980, BARKO & SMART, 1981, RATTRAY *et al.*, 1991, SHARDENDU & AMBASHT, 1991).

* Manuscrit reçu le 24 janvier 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 25 septembre 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

Étant donné que le système racinaire de la majorité des plantes aquatiques submergées peut sembler rudimentaire en regard de celui des plantes terrestres (FOGG, 1973, BLAKE, 1989), il paraît étonnant que le sédiment ait souvent été considéré comme une source importante, voire préférentielle d'éléments nutritifs (phosphore en particulier) pour la plante aquatique (BOLE & ALLAN, 1978; BARKO & SMART, 1981; SMITH & ADAMS, 1986; GABRIELSON *et al.*, 1984; MOELLER *et al.*, 1988; RATTRAY *et al.*, 1991). Mais la plupart de ces données ont été obtenues dans un cadre expérimental et n'ont généralement pas fait l'objet de confrontation avec des données de terrain.

Il a été montré en conditions contrôlées de laboratoire que certaines plantes submergées peuvent satisfaire à leurs besoins en phosphore, en prélevant cet élément exclusivement à partir du sédiment (BARKO & SMART 1980, 1981; HUEBERT & GORHAM, 1983). Sans remettre cette hiérarchisation en question, d'autres études ont révélé l'existence de mécanismes de relais entre l'eau et le sédiment : l'absorption racinaire, tout en restant quantitativement prédominante, peut être en partie suppléée par des mécanismes d'absorption foliaire lorsque la charge trophique du sédiment diminue et inversement lorsque la charge trophique de l'eau augmente (BEST & MANTAI, 1978 ; CARIGNAN & KALFF, 1979; RATTRAY *et al.*, 1991).

A l'opposé, des études effectuées dans des conditions plus proches de la réalité du terrain montrent que l'absorption et l'accumulation d'éléments nutritifs dans des plantes submergées dépendent largement de la concentration de ces éléments dans le compartiment aqueux (SHARDENDU & AMBASHT, 1991), et que l'importance relative des deux mécanismes d'absorption dépend également de la structure anatomique de la plante, de son degré d'immersion et de l'importance de sa structure racinaire (DENNY, 1972 ; HARVEY & FOX, 1973; SUTTON & ORNES, 1977).

Par ailleurs, des études réalisées à partir de données de terrain, ont mis en évidence un lien privilégié entre la composition et la répartition des communautés de macrophytes aquatiques d'eau courante et le degré trophique de l'eau (en particulier la teneur en $P\text{-}PO_4^{3-}$ et $N\text{-}NH_4^+$). Ainsi, dans le réseau hydrographique de la plaine d'Alsace, que l'on peut considérer comme un modèle hydroécologique naturel, la confrontation des paramètres physico-chimiques de la qualité de l'eau avec l'étude des phytocénoses aquatiques a permis la mise au point d'une échelle de bioindication par les végétaux aquatiques du degré trophique de l'eau (CARBIENER & ORTSCHEIT, 1987; CARBIENER *et al.*, 1990; ROBACH *et al.*, 1991, TRÉMOLIÈRES *et al.*, 1991). Cette échelle de bioindication constituée par une séquence phytosociologique de 6 communautés végétales distinctes, schématiquement symbolisées par les lettre A à F, traduit une eutrophisation croissante (TAB. I). Précisons que les nitrates largement au-dessus du seuil limitant de concentration n'interviennent pas dans le déterminisme de la végétation (CARBIENER *et al.*, 1990). Des études similaires menées en Allemagne ou dans des régions de géochimie différente (eaux faiblement minéralisées des Vosges notamment) ont confirmé le principe de la bioindication de la qualité de l'eau par les communautés végétales (KOHLER, 1971, 1975, 1982; KONOLD *et al.*, 1990 ; MULLER, 1990).

Les objectifs de cette étude sont de préciser l'importance du compartiment aqueux dans la nutrition phosphorée des plantes aquatiques, d'estimer la part respective de l'absorption foliaire et racinaire, et de définir, en conditions naturelles, le rôle du phosphore dans le déterminisme de la végétation aquatique. La méthodologie utilisée est un suivi des concentrations en phosphore total et phosphore des phosphates dans les différents compartiments du système (eau-plante-sédiment). Le développement de la biomasse n'est pas étudié précisément dans cette étude, bien qu'il soit une conséquence de l'absorption du phosphore. Deux séries d'études ont été menées parallèlement. La première série, réalisée sur des plantes récoltées dans un large échantillonnage de cours d'eau de trophie contrastée, concerne l'influence de la charge phosphatée de l'eau sur la teneur en phosphore total des organes foliaires de 14 macrophytes aquatiques les plus communément rencontrés dans le réseau hydrographique étudié. La seconde série, réalisée en conditions contrôlées de laboratoire, consiste à étudier l'importance de l'absorption foliaire du phosphore d'une plante aquatique enracinée ou non, exposée à des concentrations croissantes en phosphates dans l'eau.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

ÉTUDE *IN SITU*

Sept campagnes de terrain, portant sur 28 cours d'eau (92 sites de prélèvement d'eau, de sédiment et de plantes aquatiques) ont été réalisées du mois de mars 1993 au mois de mars 1994 dans le réseau hydrographique de la plaine d'Alsace (France, FIG. 1). Ce réseau présente une grande homogénéité de certains paramètres chimiques, ainsi l'eau est bicarbonatée calcique, de pH bien tamponné 7,5-8 et conductivité élevée (> 500 µS/cm). Une trentaine d'espèces de macrophytes aquatiques a été recensée. Les macrophytes ont été prélevés pendant la saison de végétation (juillet 1993 à septembre 1993).

Le sédiment superficiel (intégrant l'eau interstitielle) correspondant à la zone racinaire (7 premiers cm), est prélevé dans des tubes stériles, puis séché à l'étuve pendant 3-4 jours à 30 °C, et tamisé. Le phosphore total et le phosphore échangeable sont déterminés sur la fraction inférieure à 2 mm. Les résultats sont exprimés en $mgP.g^{-1}$ (matière sèche). Le P total est mesuré après minéralisation nitro-perchlorique, le P échangeable est déterminé après

Association (nombre de relevés)	**A (9)**	**B (11)**	**C (15)**	**D (17)**	**E (20)**	**F (16)**
Potamogeton coloratus	V(2)	-	-	-	-	-
Batrachospermum moniliforme	II(1)	-	-	-	-	-
Juncus subnodulosus fo subm.	II(+)	-	-	-	-	-
Chara vulgaris	II(+)	-	-	-	-	-
Chara hispida	II(+)	-	I(2)	-	-	-
Ranunculus circinatus	-	-	I(+)	-	-	-
Lamprocystis roseo persicina	II(+)	-	I(3)	I(+)	-	-
Berula erecta (Sium erectum)	V(2)	V(4)	V(2)	III(1)	III(1)	I(+)
Callitriche obtusangula	I(+)	III(+)	V(2)	V(2)	IV(1)	III(+)
Lemna trisulca	-	I(1)	III(1)	III(1)	II(1)	-
Fontinalis antipyretica	-	I(+)	I(1)	II(1)	II(+)	-
Elodea canadensis	-	-	IV(1)	III(1)	II(1)	I(+)
Potamogeton friesii	-	-	II(+)	II(1)	II(1)	II(1)
Sparganium emersum	-	-	II(+)	II(1)	II(+)	IV(1)
Lemna minor	-	-	II(1)	III(1)	V(2)	V(1)
Elodea nuttallii	-	-	I(2)	II(2)	IV(2)	IV(1)
Nasturtium officinale	-	-	-	V(1)	III(+)	II(+)
Groenlandia densa	-	-	-	II(1)	II(1)	-
Zannichellia palustris	-	-	-	II(1)	II(1)	-
Spirodela polyrhiza	-	-	-	I(1)	II(1)	IV(1)
Azolla filliculoïdes	-	-	-	I(1)	I(1)	II(1)
Potamogeton crispus	-	-	-	III(1)	II(1)	I(2)
Myriophyllum verticillatum	-	-	-	I(1)	I(+)	-
Hottonia palustris	-	-	-	I(1)	-	-
Hippuris vulgaris	-	-	-	I(1)	-	-
Potamogeton pectinatus	-	-	-	II(1)	IV(3)	IV(1)
Myriophyllum spicatum	-	-	-	II(1)	IV(1)	V(1)
Potamogeton perfoliatus	-	-	-	I(+)	I(2)	III(1)
Ceratophyllum demersum	-	-	-	I(+)	V(2)	V(1)
Oenanthe fluviatilis	-	-	-	-	I(r)	-
Ranunculus trichophyllus	-	-	-	-	I(+)	-
Potamogeton pusillus	-	-	-	-	I(+)	-
Ranunculus fluitans	-	-	-	-	II(2)	III(+)
Potamogeton lucens	-	-	-	-	-	III(1)
Potamogeton nodosus	-	-	-	-	-	III(2)
Mentha aquatica fo subm	I(r)	I(+)	I(1)	I(+)	I(1)	-
Veronica anagallis aquatica	I(+)	-	I(+)	I(+)	II(+)	-
Myosotis scorpioides	I(r)	-	I(1)	II(+)	II(+)	-
Veronica beccabunga	-	-	-	I(+)	I(+)	I(+)
	moy (std)	**moy (std)**	**moy (std)**	**moy (std)**	**moy (std)**	**moy (std)**
pH	7.4 (0.1)	7.5 (0.2)	7.5 (0.1)	7.6 (0.2)	7.9 (0.2)	7.9 (0.2)
Conductivité (µS/cm)	608 (115)	736 (112)	740 (99)	657 (66)	657 (63)	508 (52)
Dureté (meq/l)	4.8 (1.4)	4.7 (0.9)	5 (0.7)	3.9 (0.4)	3.8 (0.5)	3.2 (0.3)
$N\text{-}NH_4^+$ (µg/l)	13.7 (7.3)	22.2 (13.8)	45.3 (27.8)	33.8 (31.3)	61.2 (40)	255 (107)
$P\text{-}PO_4^{3-}$ (µg/l)	7.2 (1.7)	13 (5.5)	14.9 (6.8)	29.4 (23.6)	39.9 (33)	191.5 (116)
$N\text{-}NO_3^-$ (mg/l)	5.5 (1.4)	5.1 (1.8)	4.7 (2.1)	2.9 (2.5)	1.6 (1.1)	2.5 (0.9)

TABLEAU I.– Composition floristique des 6 associations végétales (A à F) en plaine d'Alsace. Fréquence des espèces et paramètres physico-chimiques de la qualité de l'eau. V espèce présente dans plus de 80 % des relevés, IV : 60 à 80 %, III : 40-60 %, II : 20-40 % (I < 20 %).

Floristic composition of the aquatic plant communities (A to F) in the Alsace floodplain. Frequency of occurrence and physico-chemical characteristics of water quality (classes of occurrence : V, species present in at least 80 % of the surveys, IV : 60 - 80 %, III : 40-60 %, II : 20-40 %, I < 20 %). In brackets, coefficient of abundance (according to BRAUN-BLANQUET, 1964).

Source : MNHN

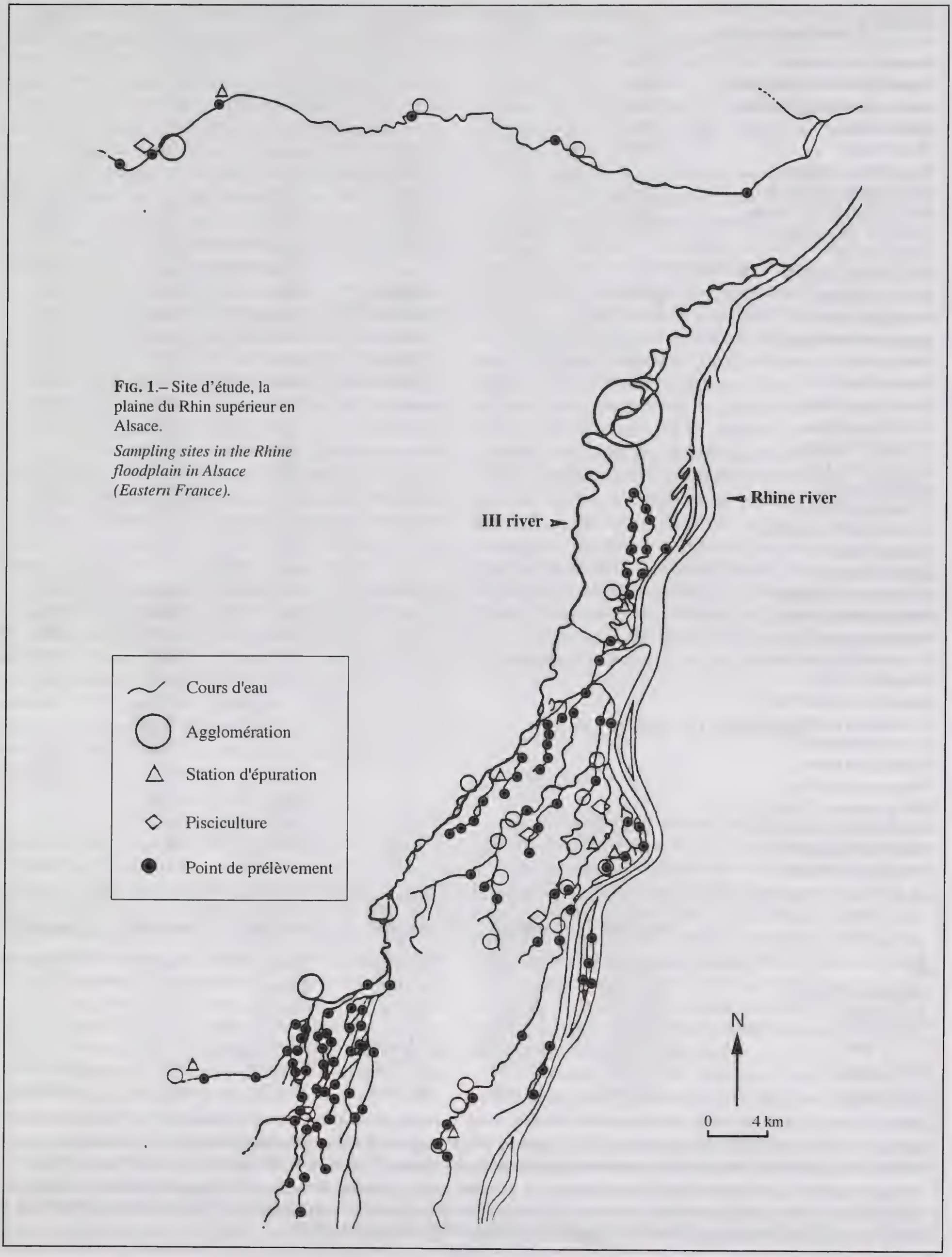


FIG. 1.– Site d'étude, la plaine du Rhin supérieur en Alsace.

Sampling sites in the Rhine floodplain in Alsace (Eastern France).

Source : MNHN

extraction par le bicarbonate de sodium (selon la méthode OLSEN *et al.*, 1954 utilisée pour les sols calciques). L'échantillon homogénéisé est agité dans la solution de bicarbonate pendant 30 minutes à 60 t/mn, la solution est filtrée, acidifiée à pH 4 et analysée à l'aide de l'auto-analyseur pour les teneurs en PO_4^{3-}.

Les parties apicales (10 derniers cm) des macrophytes aquatiques prélevés sur chaque site sont rincées à l'eau claire puis soigneusement essuyées à l'aide de papier absorbant, afin de les débarrasser, autant que possible, des organismes épiphytes. Après séchage à l'étuve pendant 2 jours à 30 °C, les plantes sont broyées puis minéralisées.

Les principaux paramètres de la qualité de l'eau ont également été déterminés ($P\text{-}PO_4^{3-}$, $N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NO_3^-$, dureté, conductivité, oxygène dissous, pH, température).

Les phosphates de l'eau, des minéralisats et des extractions sont déterminés par une méthode colorimétrique (AFNOR, NF T90-023 sept 92) adaptée à un auto-analyseur à microflux continu (Alliance Instruments Intégral ECT), dont la sensibilité permet de détecter des concentrations inférieures à 10 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}.

SÉRIES EXPÉRIMENTALES EN CONDITIONS CONTROLÉES DE LABORATOIRE.

Elodea nuttallii a été choisie pour ces séries expérimentales en raison de son aptitude à coloniser des milieux de trophie variée, méso-eutrophes à eutrophes, voire même hypertrophes (de 30 à 500 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}). Cette plante généralement enracinée présente en outre l'avantage de pouvoir se multiplier végétativement par fragmentation, donc en l'absence de sédiment.

Les Élodées utilisées lors des expériences proviennent d'un cours d'eau mésotrophe (Istergraben) caractérisé par de faibles teneurs en $P\text{-}PO_4^{3-}$ (< à 30 µg P. l^{-1}) et en $N\text{-}NH_4^+$ (< à 60 µg N. l^{-1}). Les échantillons ont été récoltés au printemps (avril-mai).

Après leur récolte, les parties apicales des Élodées sont acclimatées dans les conditions expérimentales pendant 4 à 6 jours (éventuellement 10 jours si on désire obtenir des racines) dans des aquariums de 10 l contenant de l'eau du robinet dont la composition chimique est quasi identique à celle de l'Istergraben. Il s'agit en effet, d'une eau naturellement tamponnée, fortement minéralisée (conductivité > 600 µS. cm^{-1}), moyennement dure, bicarbonatée (250 mg HCO_3^-. l^{-1}), calcique (100 mg Ca. l^{-1}), pauvre en phosphore et azote ammoniacal (< 10 µg. l^{-1} $P\text{-}PO_4^{3-}$ et $N\text{-}NH_4^+$), mais contenant des nitrates en quantité largement suffisante (> 3 mg. l^{-1} $N\text{-}NO_3^-$). Ces aquariums sont placés dans un bassin en plexiglass rempli d'eau équipé d'un système réfrigérant, maintenant la température à 15 °C (±1 °C). L'ensemble est placé sous une rampe d'éclairage composée de 8 néons (464 W), située à 30 cm au-dessus du bassin permettant d'obtenir une intensité lumineuse de 5 000 lux à la surface de l'eau des aquariums. La photopériode choisie (14 h lumière/10 h obscurité) correspond aux conditions d'exposition en période végétative. Les aquariums sont continuellement aérés avec de l'air atmosphérique, permettant un renouvellement du milieu en O_2 et CO_2.

Après l'acclimatation, les Élodées non racinées destinées à l'étude des transferts de P entre la phase aqueuse et les organes foliaires sont rincées rapidement à l'eau claire, pesées, fixées sur des anneaux en verre par un élastique et réparties dans des aquariums contenant 6 litres d'eau du robinet. Les Élodées racinées (racines de 5 cm au moins) destinées à l'étude des flux de P entre le sédiment, l'eau et les organes foliaires, sont rincées, pesées et plantées dans des pots en verre contenant 200 ml (15-20 g poids sec) de sédiment eutrophe (1 000 µg P total. g^{-1}, 80 µg P extractible. g^{-1}). Le sédiment est recouvert d'une couche de paraffine pour limiter les échanges directs entre l'eau et le sédiment. Pour éviter des phénomènes de fermentation à l'intérieur du sédiment, une longue tige creuse en verre, plantée dans le sédiment et débouchant à l'extérieur du système, permet de maintenir un équilibre gazeux avec l'atmosphère. Deux protocoles expérimentaux ont été réalisés :

1) l'un pour étudier la cinétique d'absorption des phosphates dans la plante en fonction de la concentration en phosphates de la phase aqueuse. Les phosphates sont ajoutés au compartiment aqueux en début d'expérience. Après homogénéisation du milieu, des prélèvements d'eau sont effectués régulièrement (en moyenne toutes les deux heures), pendant trois jours. 5 séries expérimentales ont ainsi été réalisées (3 avec sédiment, 2 sans sédiment). A la fin des expériences, le phosphore total de la plante est analysé, ainsi que le P extractible et le P total du sédiment, le cas échéant. Les résultats du suivi de l'absorption du phosphore au cours de l'expérience sont rapportés au poids frais, la détermination du poids sec ne pouvant être réalisé à chaque instant de prélèvement. A la fin de l'expérience, les élodées sont prélevées et séchées, et le P total de la plante peut être exprimé en poids sec.

2) l'autre pour étudier l'influence de la charge phosphatée du compartiment aqueux sur l'assimilation et l'accumulation du phosphore dans les organes foliaires des plantes. Dans ce cas, la charge phosphatée est maintenue constante (alimentation continue en phosphates grâce à une pompe péristaltique). Le milieu se renouvelle complètement en 24 h, l'excédent d'eau s'évacuant par débordement. En milieu renouvelé, trois séries expérimentales identiques, sans sédiment, ont été réalisées sur trois jours. Chaque aquarium contient 36 plants d'Élodées fixés sur des anneaux en verre. 12 Élodées sont récoltées chaque jour, pesées (poids frais et poids sec) puis minéralisées.

Source : MNHN

Dans les deux cas, nous avons choisi des concentrations de $P\text{-}PO_4^{3-}$ dans l'eau représentatives de la gamme trophique observée dans le réseau hydrographique de la plaine d'Alsace : 5, 50, 100, 200, 400, 500, 1000, 2000 µg. $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

STOCKAGE DU PHOSPHORE EN FONCTION DE LA CHARGE PHOSPHATÉE DES COURS D'EAU EN CONDITIONS NATURELLES DE TERRAIN.

Les premiers résultats obtenus à partir des données de terrain, concernant 14 macrophytes submergés, montrent une très grande variabilité inter-spécifique, mais aussi intra-spécifique des teneurs moyennes en P foliaire (TAB. II). Cette variabilité avait déjà été soulignée par une étude bibliographique, concernant des systèmes d'eau courante (DUARTE 1992).

Les teneurs en P foliaire sont toujours supérieures, dans notre système d'étude à la valeur critique (1.3 µg P. g^{-1}) proposée par GERLOFF & KROMBHOLZ (1966).

La forte **variabilité inter-spécifique** observée est directement fonction du niveau trophique de l'eau ; en effet, on constate que les plantes inféodées aux milieux oligotrophes ou mésotrophes correspondants aux échelons A, B, C de l'échelle de bioindication présentent des teneurs significativement plus faibles que celles se développant dans des milieux eutrophes ou hypertrophes (échelons D, E, F).

Si la gamme de teneurs obtenues dans notre secteur d'étude correspond à celle trouvée par DUARTE (1992) dans d'autres systèmes d'eau courante, en revanche certaines valeurs sont sensiblement plus élevées que celles relevées dans des systèmes lénitiques (teneurs en P foliaire de *Potamogeton perfoliatus* récolté dans un lac australien comprises entre 0.7 et 2.8 mg P. l^{-1}, ROYLE & KING, 1991). L'influence de la vitesse du courant sur l'absorption et l'accumulation du phosphore reste à démontrer. Notons à ce sujet, que les plus fortes teneurs en P total foliaire ont été observées chez *Ranunculus fluitans* (18 mg P. g^{-1}), espèce typique des milieux à courant vif.

La **variabilité intra-spécifique** des teneurs en P foliaire est plus importante chez les plantes des milieux eutrophes (3.3 à 12.2 mg P. g^{-1} pour *Elodea nuttallii*, 2.7 à 13.6 mg P. g^{-1} pour *Ceratophyllum demersum*) que pour les plantes inféodées aux milieux oligotrophes ou mésotrophes (1.2 à 2.9 mg P. g^{-1} pour *Potamogeton coloratus ;* 1.7 à 4.7 mg P. g^{-1} pour *Berula erecta*). Cette variabilité semble également dépendre des modes de reproduction végétative. En effet, les concentrations en P foliaire des macrophytes capables de se multiplier végétativement par fragmentation (*Elodea nuttallii, Elodea canadensis*) ainsi

TABLEAU II.– Teneurs moyennes (minimum et maximum) en P total mg P/g des organes foliaires de 14 espèces de macrophytes aquatiques en fonction du statut trophique des cours d'eau (statut trophique donné dans le tableau I)

Mean amounts (minimum and maximum) of foliar P (mg. g^{-1}), in 14 aquatic macrophytes in relation with the levels of eutrophication (eutrophication levels given in table I).

EUTROPHISATION CROISSANTE →						
Echelons trophiques définis par l'échelle de bioindication	A	B	C	D	E	F
Teneurs moyennes P-phosphates dans l'eau (µg.l-1)	< 10	13	15	30	40	190
Potamogeton coloratus	2.1 (1.2-2.9)					
Berula erecta	2.1 (1.7-2.4)	2.8 (2.3-3.5)	2.6 (1.7-4.7)			
Callitriche obtusangula			3.4 (1.8-6.7)	4.0 (1.3-7.5)	6.0 (3.1-9.5)	6.9 (5.2-9.3)
Myriophyllum verticillatum				3.1 (2.6-3.5)		
Potamogeton perfoliatus				5.6 (5.2-6.1)	5.3 (4.5-5.9)	7.0 (4.5-10.6)
Elodea canadensis			4.2 (2.2-6.1)	4.7 (2.7-6.3)	5.3 (4.5-6.1)	9.0 (7.5-11.1)
Elodea nutallii				5.8 (3.3-10.6)	7.0 (4.3-8.6)	9.7 (7-12.2)
Potamogeton pectinatus				3.8 (3.1-4.3)	2.0	3.5 (2.7-4.3)
Myriophyllum spicatum				4.0 (3.4-4.6)	4.4 (3.8-5.7)	5.5 (3.5-7.4)
Potamogeton crispus				5.3 (5.2-5.4)	6.5 (5.8-6.8)	6.2
Ceratophyllum demersum				3.4	4.6 (2.7-8.1)	10.6 (7.6-13.6)
Ranunculus fluitans					13.7	14.7 (8.5-18)
Potamogeton lucens						5
Potamogeton nodosus						6 (4.5-8.7)

Source : MNHN

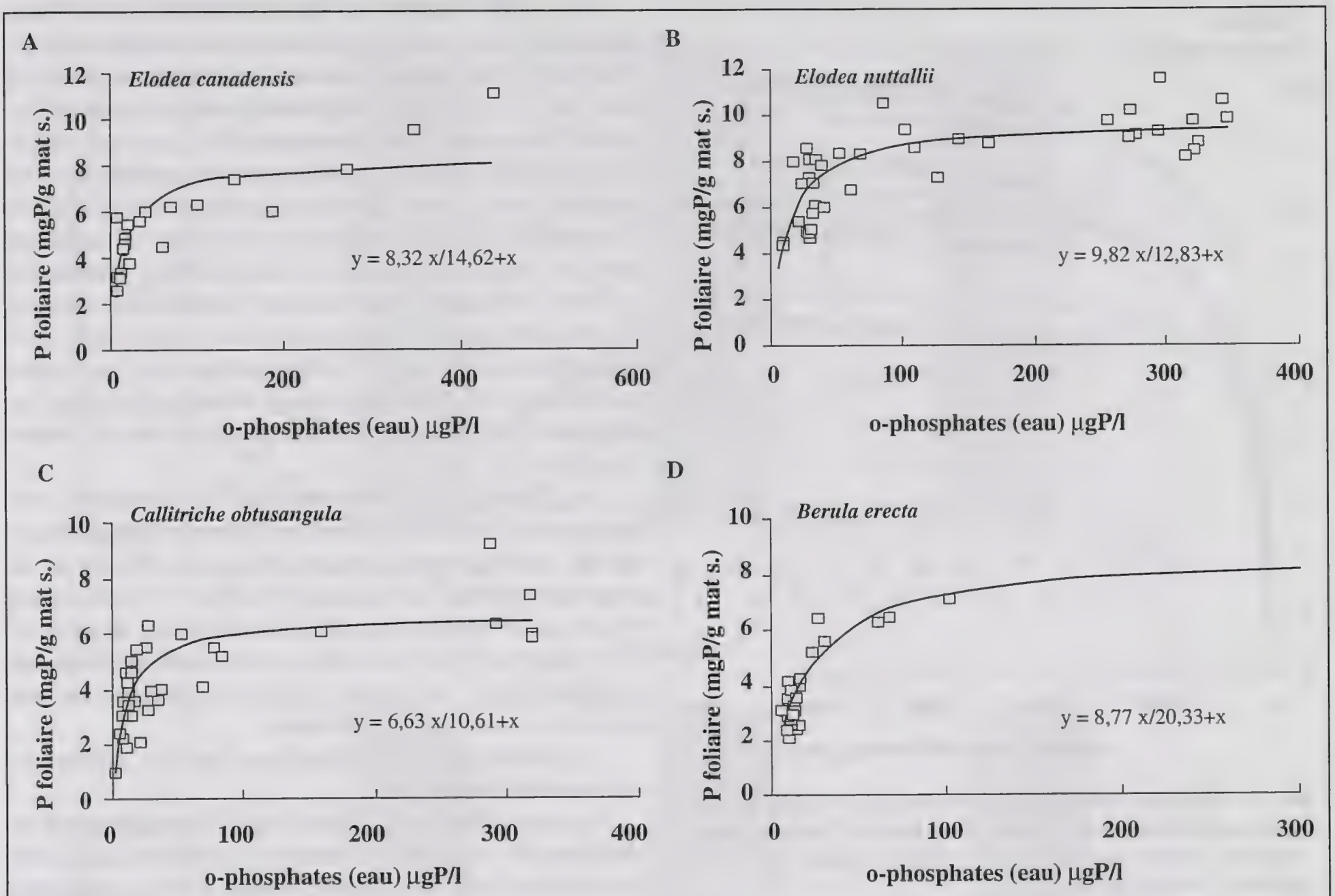


FIG. 2.– P foliaire de *Elodea canadensis* (A), *Elodea nuttallii* (B), *Callitriche obtusangula* (C) et de *Berula erecta* (D) en fonction de la charge phosphatée (moyenne annuelle) des cours d'eau (µg P-PO_4.l^{-1}). ❑ valeurs mesurées, – valeurs estimées (modèle de Monod Statitcf).

Foliar P of Elodea canadensis *(A),* Elodea nuttallii *(B),* Callitriche obtusangula *(C) and* Berula erecta *(D) in relation to the phosphate concentrations (annual means) of running waters (µg P-PO4.l^{-1}).* ❑ *measured values, – estimated values (model of Monod Statitcf).*

que celles des plantes faiblement enracinées (*Ceratophyllum demersum*) présentent une variabilité spécifique très importante (de 2.7 à 13.6 mg P. g^{-1} pour *Ceratophyllum demersum*) dépendante de la qualité de l'eau : leurs teneurs en P foliaire augmentent avec la charge phosphatée de l'eau. A l'opposé, *Potamogeton pectinatus*, dont la multiplication végétative se réalise essentiellement par tubercule, présente une faible variabilité (de 2 à 4.3 mg P. g^{-1}) qui semble indépendante de la qualité de l'eau.

Une étude plus particulièrement ciblée sur *Callitriche obtusangula, Elodea nuttallii, Elodea canadensis* et *Berula erecta* a révélé l'existence d'une relation de type hyperbolique (modèle de Monod, Statitcf) entre les teneurs annuelles moyennes en P foliaire et la charge phosphatée annuelle moyenne du compartiment aqueux (R^2 = 0.93 pour *C. obtusangula*, 0.95 pour *E. canadensis*, 0.97 pour *Berula erecta* et 0.98 pour *E. nuttallii)* (FIG. 2A-D et FIG. 3). Cette relation révèle l'existence d'un maximum d'absorption de P dans les organes foliaires des quatre macrophytes, lorsque la charge phosphatée de l'eau excède 100 µg P-PO_4^{3-}. l^{-1}. Ce maximum pourrait correspondre à une saturation des sites de stockage du P dans les vacuoles. On sait en effet, que certains organismes végétaux sont susceptibles, lorsque le milieu nutritif est riche en phosphore, de stocker le phosphore sous forme de polyphosphates (EBEL *et al.,* 1965, FOGG, 1973 ; KULAEV, 1979).

A l'inverse, aucune relation n'a pu être dégagée entre les concentrations en P foliaire de ces quatres macrophytes et les concentrations moyennes en P total et P extractible du sédiment.

ABSORPTION ET ACCUMULATION DU P EN CONDITIONS CONTROLÉES DE LABORATOIRE

a) Cinétique d'absorption après ajout d'une charge phosphatée unique :

Quelles que soient les concentrations initiales en phosphates dans le compartiment aqueux, un accroisse-

Source : MNHN

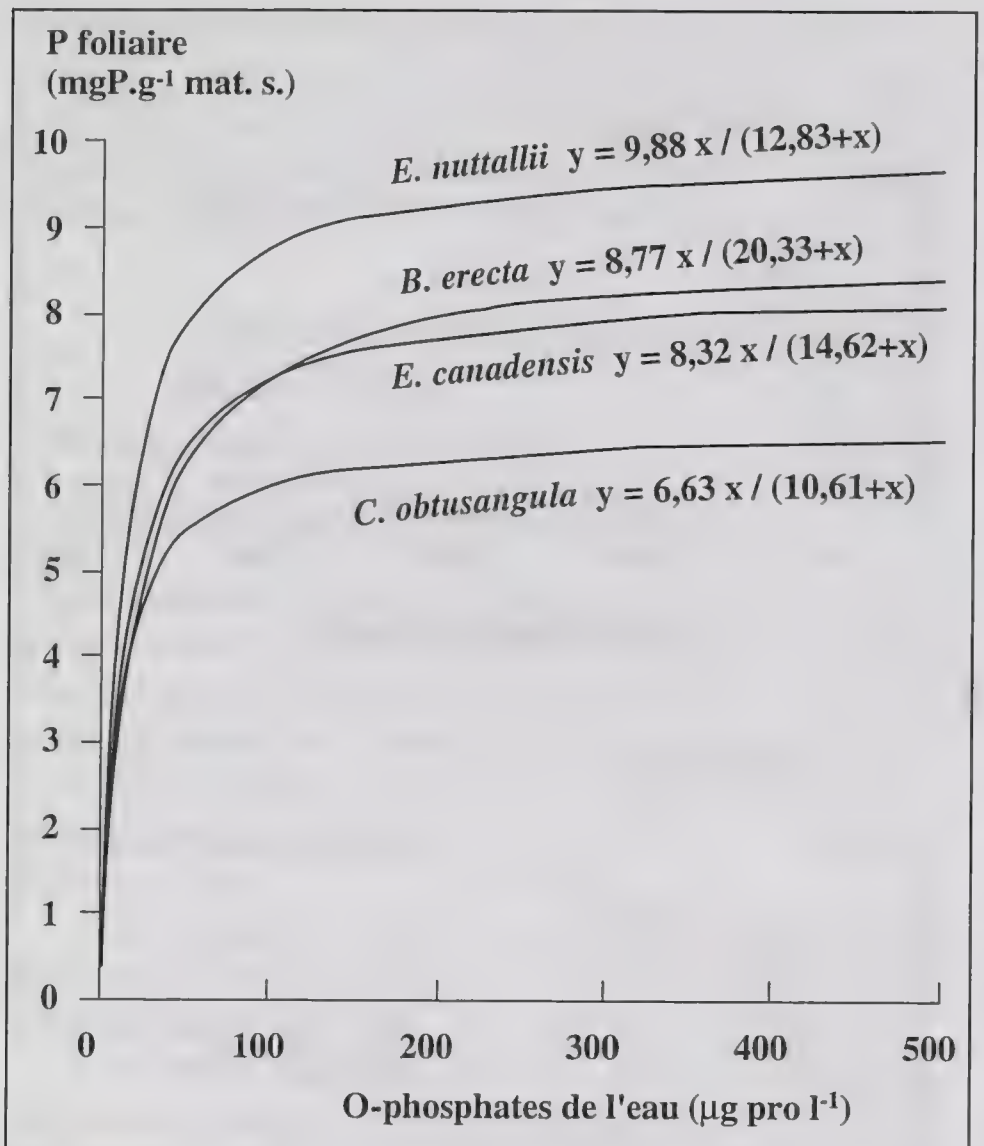


FIG. 3.– Variations des teneurs en P foliaire de 4 macrophytes aquatiques en fonction de la charge phosphatée de l'eau des cours d'eau de la plaine d'Alsace. valeurs calculées d'après le modèle de Monod (Statitcf).

Plant tissue P of 4 aquatic macrophytes in relation to the phosphate concentrations of water in Alsacian running waters. The values are estimated from the model of Monod (Statitcf).

ment de 10 à 30 % de la biomasse (poids frais) a été mesuré, indépendamment de la charge phosphatée de l'eau, y compris pour le témoin où la concentration initiale de phosphates n'excède pas 10 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}.

Les cinétiques d'absorption cumulée du Phosphore (système avec ou sans sédiment) révèlent l'influence de la charge phosphatée de l'eau sur les quantités de phosphore consommées par *Elodea nuttallii* pendant 3 jours (FIG. 4). Ces quantités augmentent en effet avec les concentrations en phosphates de l'eau, lorsque celles-ci restent inférieures à 500 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}. Une expérience effectuée avec un antibiotique (9 mg. l^{-1} de Chloramphénicol) n'a pas révélé de différence significative, ce qui suppose que la consommation de P par la flore bactérienne peut être considérée comme négligeable. De même, des contrôles effectués au microscope à la fin des expériences, n'ont révélé que de très petites quantités d'organismes épiphytiques à la surface des feuilles, excepté pour les concentrations de 1000 et 2000 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}. L'influence du prélèvement de P par les épiphytes peut donc être également considéré comme négligeable pour les concentrations de P dans l'eau inférieures ou égales à 500 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}.

Une étude comparative des expériences avec et sans sédiment nous montre, qu'à concentration identique de phosphates dans l'eau, la quantité de phosphore prélevé à partir de l'eau est moins importante lorsque la plante dispose de deux sources de nutriments (FIG. 5), ce qui suggérerait un phénomène de nutrition complémentaire par voie racinaire, mais aucune variation significative de P total ou P extractible dans les sédiments n'a pu être détectée, au cours des trois jours, quelle que soit la charge phosphatée de l'eau. L'absence de variation du P sédimentaire pourrait s'expliquer par des causes d'ordre analytique (les méthodes analytiques, ne détectant que des variations supérieures à 10-15 % de la charge initiale et la charge du sédiment trop forte pour permettre de déceler de faibles variations).

Par ailleurs, nous observons que l'accumulation de P dans les tissus est plus importante lorsque le compartiment aqueux représente une source unique et abondante de phosphore ($P\text{-}PO_4^{3-}$ > 100 µg. l^{-1}) (FIG. 6). L'absorption foliaire reste fonction (test de Newman-Keuls au seuil de 5 %), dans les deux cas, de la concentration initiale de phosphate dans l'eau, même si elle est complétée par une absorption racinaire le cas échéant.

b) Accumulation du phosphore dans les plantes en milieu nutritif renouvelé.

Aucune influence significative de la concentration en phosphate de l'eau sur les teneurs en phosphore total dans les plantes n'a pu être observée lorsque la charge phosphatée du compartiment aqueux est maintenue constante pendant la durée de l'expérience. En outre, les teneurs en P foliaire sont toutes inférieures à 4.5 mg P. g^{-1} même lorsque la charge phosphatée excède 100 µg $P\text{-}PO_4^{3-}$. l^{-1}, alors qu'elles atteignent 12 mg P. g^{-1} dans les cours d'eau eutrophes présentant des concentrations souvent nettement supérieures à 100 µg. l^{-1}.

Pour expliquer cette contradiction entre les concentrations en P total relevées in situ et celles mesurées expérimentalement, on peut être amené à formuler plusieurs hypothèses :

- la durée de l'expérience est insuffisante pour atteindre la saturation des sites de stockage,
- l'accumulation du phosphore et la saturation des sites de stockage dépendraient également de la nutrition racinaire.
- l'existence d'une relation entre l'absorption et l'accumulation du phosphore dans la plante et les teneurs en azote ammoniacal dans l'eau. Une relation similaire avait déjà été montrée par BEST & MANTAI (1979) vis-à-vis des nitrates. En effet, dans les conditions naturelles, une charge importante en phosphate s'accompagne généralement d'une charge importante en azote ammoniacal. Or, dans nos aquariums, la concentration en $N\text{-}NH_4^+$ est faible et quasi constante (<10 µg $N\text{-}NH_4^+.l^{-1}$), quelle que soit la charge phosphatée.

Source : MNHN

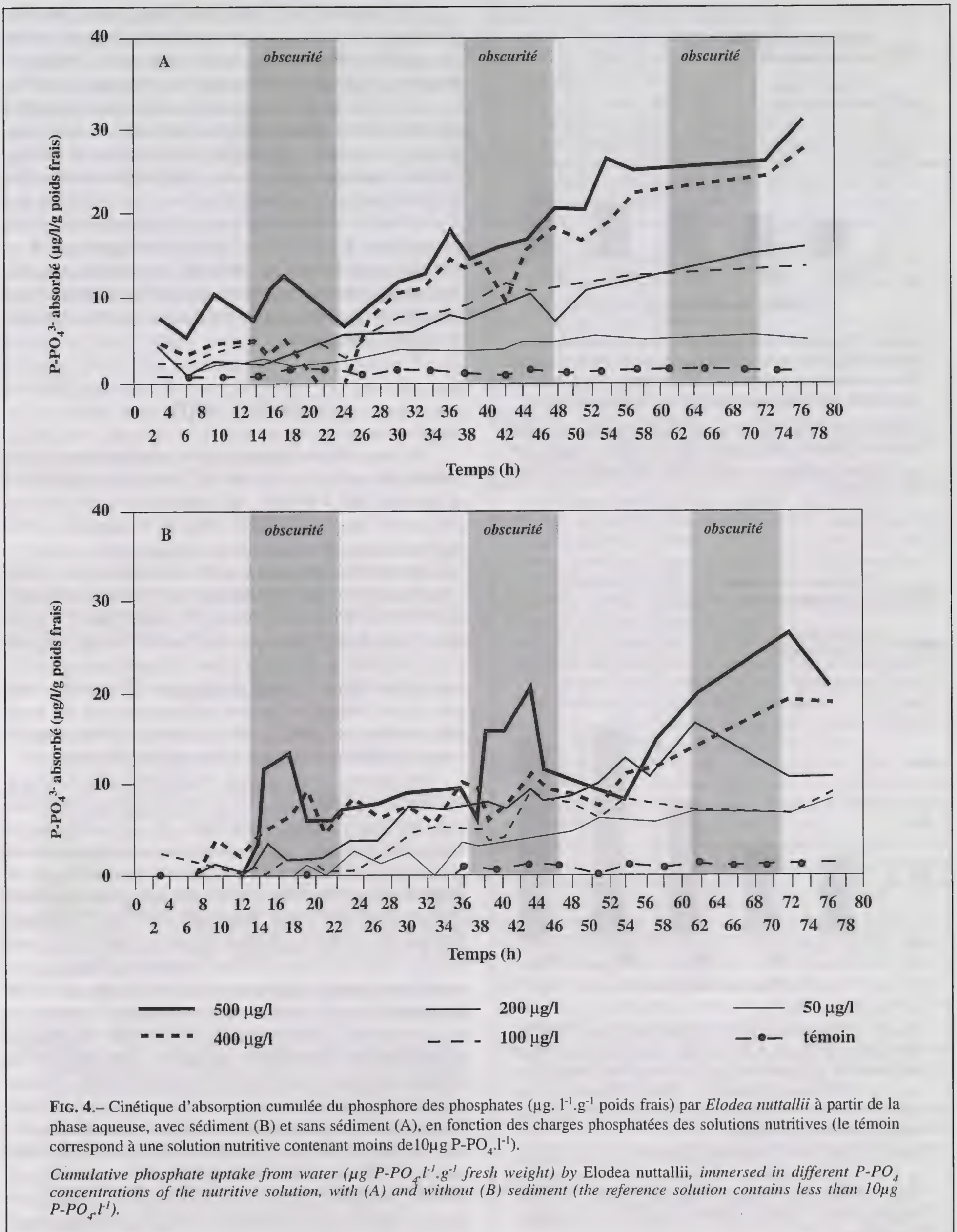


FIG. 4.– Cinétique d'absorption cumulée du phosphore des phosphates (µg. $l^{-1}.g^{-1}$ poids frais) par *Elodea nuttallii* à partir de la phase aqueuse, avec sédiment (B) et sans sédiment (A), en fonction des charges phosphatées des solutions nutritives (le témoin correspond à une solution nutritive contenant moins de10µg $P\text{-}PO_4.l^{-1}$).

Cumulative phosphate uptake from water (µg $P\text{-}PO_4.l^{-1}.g^{-1}$ fresh weight) by Elodea nuttallii, *immersed in different $P\text{-}PO_4$ concentrations of the nutritive solution, with (A) and without (B) sediment (the reference solution contains less than 10µg $P\text{-}PO_4.l^{-1}$).*

Source : MNHN

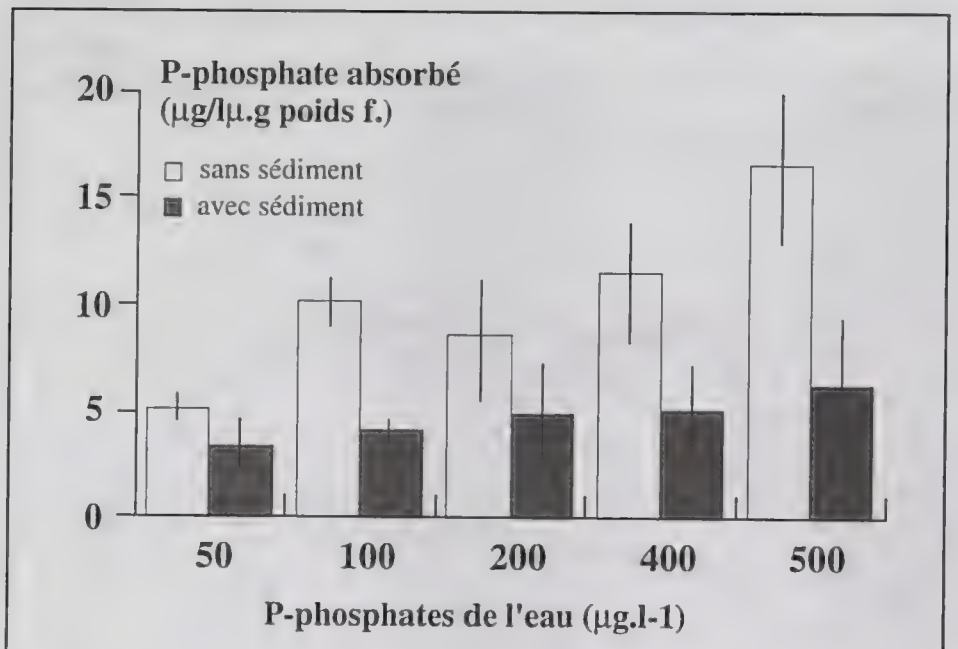


FIG. 5.– Phosphore des phosphates absorbé en 30 heures à partir de la phase aqueuse (P-PO_4 µg. $l^{-1}.g^{-1}$ poids frais) par *Elodea nuttallii*, en présence ou en l'absence de sédiment, en fonction de la charge phosphatée de la solution nutritive.

Uptake of phosphates phosphorus P uptake after 30 h from water by Elodea nuttallii *(µg P-$PO_4 l^{-1}.g^{-1}$ fresh weight) with and without sediment, in relation with phosphate concentration in water.*

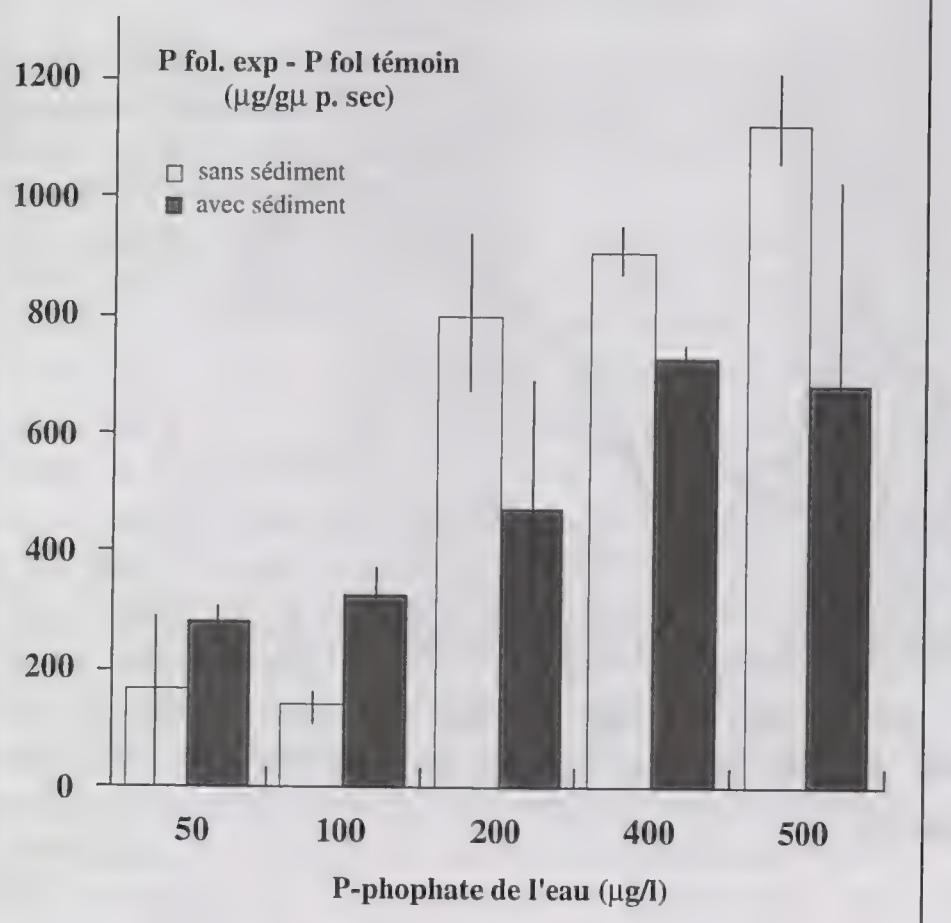


FIG. 6.– Accroissement du P total foliaire *d'Elodea nuttallii* par rapport au témoin pour chaque concentration de phosphate dans la solution nutritive. Expérience réalisée pendant trois jours sans renouvellement du milieu. Moyenne et écart-type calculés sur 3 (système sans sédiment) et 2 (système avec sédiment) expériences.

Increase of foliar P in Elodea nuttallii *for each concentration of P-PO_4 in the nutritive solution, over 3 days without renewal of nutritive solution. Mean and standard deviation obtained from 3 (without sediment) and 2 (with sediment) experiments.*

• l'accumulation du phosphore sous forme de polyphosphates et la saturation des sites de stockage ne se produit pas en conditions de trophie constante. Cette hypothèse est étayée par nos observations de terrain. En effet, in situ, les fluctuations temporelles de la charge phosphatée de la phase aqueuse augmentent avec le degré trophique : les milieux oligotrophes sont caractérisés par une relative constance de la charge phosphatée, en revanche, les milieux les plus eutrophes sont caractérisés par d'importantes variations temporelles des concentrations en phosphates. La capacité d'une plante aquatique à se constituer rapidement des réserves phosphorées pourrait être un mécanisme d'adaptation aux milieux eutrophes, lui permettant ainsi de subvenir à ses besoins en P en période de carence phosphorée.

CONCLUSION

Les macrophytes jouent un rôle important dans la circulation du phosphore au sein de l'écosystème aquatique, et peuvent être à ce titre, des marqueurs du niveau trophique de l'eau tant au niveau du déterminisme des communautés végétales qu'au niveau des individus.

Nos résultats obtenus à partir des données de terrain, concernant l'évolution des teneurs en P foliaires de quatre macrophytes aquatiques immergés, confirment l'importance de la charge phosphatée de l'eau sur l'assimilation et l'accumulation du P dans la plante, indépendamment de la charge phosphatée (P total) du sédiment. Ces résultats suggèrent une absorption foliaire préférentielle, ce qui justifie, au moins en partie, le principe de la bioindication du degré trophique de l'eau par les communautés végétales.

Par ailleurs, la très grande variabilité des teneurs en P foliaire des plantes aquatiques, et plus particulièrement dans les macrophytes susceptibles de se multiplier par fragmentation, nous révèle l'existence de phénomènes d'accumulation du P à l'intérieur des tissus, lorsque le degré trophique de l'eau s'élève. Ce phosphore accumulé devient alors une source potentielle de P pour la plante, lorsque les sources exogènes de nutriments s'épuisent (FOGG, 1973, KULAEV, 1979). L'aptitude d'une espèce aquatique à stocker de grandes quantités de phosphore lui permettrait ainsi de résister aux importantes fluctuations temporelles de la charge phosphatée de l'eau, fluctuations caractéristiques des milieux eutrophes. Cette capacité la rendrait ainsi plus compétitive en milieu eutrophe qu'une espèce moins apte à accumuler le P, ce qui pourrait en partie, expliquer la distribution, dans notre site d'étude, des deux espèces d'Élodées présentant les mêmes spectres trophiques : *E. nuttallii* (préférentiellement inféodée aux milieux eutrophes, voire hypertrophes) et *E. canadensis* (préférentiellement inféodée aux milieux mésotrophes). En effet, *E. nuttallii* présente des capacités d'accumulation

Source : MNHN

de P plus importantes que *E. canadensis* (FIG. 2), ce qui la rendrait ainsi plus compétitive en milieu eutrophe.

Enfin, nous montrons, en conditions expérimentales, qu'*Elodea nuttallii* est capable de prélever du phosphore à partir du compartiment aqueux seul, ou des deux compartiments (eau et sédiment), le phénomène d'accumulation de P dans les tissus végétaux étant accentué lorsque la seule source de phosphore est la phase aqueuse. Avec ou sans sédiment, l'absorption foliaire reste dépendante de la charge phosphatée de l'eau.

Dans les conditions naturelles, les plantes aquatiques immergées comme *E. nuttallii* peuvent donc disposer de trois sources de phosphore : le phosphore disponible dans le sédiment, le phosphore des phosphates du compartiment aqueux et le phosphore interne accumulé sous forme de polyphosphates. La part respective de chacune de ces sources dépendrait du statut trophique de l'eau ainsi que de paramètres anatomiques et physiologiques spécifiques (degré d'immersion, importance du système racinaire, mode de multiplication végétative...).

REMERCIEMENTS

Ce travail a pu être réalisé grâce au soutien financier de l'Agence de l'eau Rhin-Meuse, l'IFARE et le Ministère de l'environnement. Nous remercions les deux correcteurs pour leurs remarques constructives et précisons que ce travail se poursuit étant donné le nombre de questions non résolues.

BIBLIOGRAPHIE

BARKO, J.W. & SMART, M., 1980.– Mobilization of sediment phosphorus by submersed freshwater macrophytes. *Freshwater Biology*, 10 : 229-238

BARKO, J.W. & SMART, M., 1981.– Sediment-based nutrition of submerged macrophytes. *Aquat. Bot.*, 10 : 339-352

BEST, M.D. & MANTAI, K.E., 1979.– Growth of *Myriophyllum* : sediment or lake water as the source of nitrogen and phosphorus. *Ecology*, 59 (5) : 1075-1080.

BLAKE, G., 1989.– Rôle des végétaux aquatiques vis-à-vis du phosphore dans les écosystèmes et les systèmes d'épurations. Coll. "Le phosphore, ses dérivés et leur comportement dans le milieu naturel". 22-24 nov 1988, Assoc. Intern. des Entretiens Écologiques, 28 (1) : 119-132.

BOLE, J.B. & ALLAN, J.R., 1978.– Uptake of phosphorus from sediment by aquatic plants, *Myriophyllum spicatum* and *Hydrilla verticillata*. *Water Research*, 12 : 353-358.

CARBIENER, R. & ORTSCHEIT, A., 1987.– Wasserpflanzengesellschaften als Hilfe zur Qualitätsüberwaschung eines des grossten Grundwasservorkommens Europas (Oberrheinebene), Proceed. Inter. Symp. IAVS Tokyo Yokohama 1984, *Vegetation Ecology and Creation of New Environments*, Ed by Miyawaki : 284-312.

CARBIENER, R., TREMOLIERES, M., MERCIER, J.L. & ORTSCHEIT, A., 1990.– Aquatic macrophyte communities as bioindicators of eutrophication in calcareous oligosaprobe stream waters (Upper Rhine plain, Alsace). *Vegetatio*, 86 : 71-88.

CARIGNAN, R. & KALFF, J., 1980.– Phosphorus sources for aquatic weeds : water or sediment ? *Science*, 207 : 987-988.

DENNY, P. 1972.– Sites of nutrient absorption in aquatic macrophytes. *Journal of Ecology*, 60 : 819-829.

DENNY, P. 1980.– Solute movement in submerged angiosperms. *Biol. Rev.* 55 : 65-92.

DUARTE, C., 1992.– Nutrient concentration of aquatic plants : Patterns across species. *Limnol. Oceanogr.* 37 (4) : 882-889.

EBEL, J.P., DIRHEIMER, G., STAHL, A. & FELTER, S., 1965.– Quelques aspects nouveaux de la biochimie des polyphosphates inorganiques. Congrès "Composés organiques du phosphore". Toulouse, Ed CNRS : 289-300.

FOGG, G.E., 1973.– Phosphorus in primary aquatic plants, *Wat. Res.* 7 : 77-91.

GABRIELSON, J.O., PERKINS, M.A. & WELSH, E.B., 1984.– The uptake and release of phosphorus by *Elodea densa*. *Hydrobiologia*, 111 : 43-48.

GERLOFF, G.C. & KROMBHOLZ, P.H., 1966.– Tissue analysis as a measure of nutrient availability for the growth of angiosperm aquatic plants. *Limnology and Oceanography*, 11 : 529-537.

HARVEY, R.M., & FOX, J.L., 1973.– Nutrient removal using *Lemna minor*. *J. Water Pollut. Control Fed.* 45 : 1928-1938.

HUEBERT, D.B. & GORHAM, P.R., 1983.– Biphasic mineral nutrition of the submersed aquatic macrophyte *Potamogeton pectinatus*. *Aquat. Bot.*16 : 269-284.

KOHLER, A., 1971.– Zur Ökologie submerser Gefäss-Macrophyten in Fliessgewässern. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 84 : 713-720

KOHLER, A., 1975.– Macrophytische Wasserpflanzen als Bioindikatoren für Belastungen von Fliessgewässer-Ökosystemen. *Verhandlungen der Umweltschutz Sonderreihe Umwelttagung*. 31 : 127-139.

KOHLER, A., 1982.– Wasserpflanzen als Belastungsindikatoren. *Dechenia-Beihefte* (Bonn) 26 : 31-42.

KONOLD, W., SCHÄFER, O. & KOHLER, A., 1990.– Wasserpflanzen als Bioindikatoren, dargestellt am Beispiel kleinerer Stillgewässer Oberschwabens und der Franche-Comté. *Ökologie und Naturschutz*, Verlag Margraf, Welkersheim 3 : 167-181.

KULAEV, I.S., 1979.– *The biochemistry of inorganic polyphosphates*. Ed John Wiley & Sons, New York : 255p.

MOELLER, R.E., BURHOLDER, J.M., & WETZEL, R.G., 1988.– Significance of sedimentary phosphorus to a rooted submersed macrophyte (*Najas flexillis* (Willd.) Rostk. and Schmidt) and its algal epiphytes. *Aquat. Bot.*, 32 : 262-281.

MULLER, S., 1990.– Une séquence de groupements végétaux bioindicateurs d'eutrophisation croissante des cours d'eau faiblement minéralisés des Basses-Vosges gréseuses du Nord. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 310, série III : 509-514

OLSEN, S.R., COLE, C.V., WATANABE, M. & DEAN, L.A., 1954.– Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *U.S. Dep. of Agric. Circ.*, 939.

RATTRAY, M.R., WILLIAMS, C.H. & BROWN, J.M.A., 1991.– Sediment and water as sources of nitrogen and phosphorus for submerged rooted aquatic macrophytes. *Aquat. Bot.*, 40 : 225-237

ROBACH, F., EGLIN, I., CARBIENER, R., 1991.– Hydrosystème rhénan : évolution parallèle de la végétation aquatique et de la qualité de l'eau (Rhinau). *Bull. Ecol.*, 22 : 227-241.

ROYLE, R.N. & KING, R.J., 1991.– Aquatic macrophytes in Lake Liddell, New South Wales : biomass, nitrogen and phosphorus status, and changing distribution from 1981 to 1987. *Aquat. Bot.*, 41 : 281-298.

SHARDENDU, & AMBASHT, R.S., 1991.– Relationship of nutrients in water with biomass and nutrient accumulation of submersed macrophytes of a tropical wetland. *New Phytol.*, 117 : 493-500.

Source : MNHN

SMITH C, S. & ADAMS, S.A., 1986.– Phosphorus transfer from sediment by *Myriophyllum spicatum*. *Limnol. Oceanogr.,* 31 (6) : 1312-1321.

SUTTON, D.L. & ORNES, W.H., 1977.– Growth of *Spirodela polyrrhiza* in static sewage effluent. *Aquat. Bot.,* 3 : 231-237.

TREMOLIÈRES, M., CARBIENER, D., CARBIENER, R., EGLIN, I., ROBACH, F., SANCHEZ-PEREZ, J.M., SCHNITZLER, A. & WEISS, D., 1991.– Zones inondables, végétation et qualité de l'eau en milieu alluvial rhénan : l'île de Rhinau, un site de recherches intégrées. *Bull. Ecol.,* 22 (3-4) : 317-336.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

The aquatic rooted, submerged macrophytes have two nutrient sources: the open water and the interstitial water of sediment. Phosphorus absorption can occur by root and/or by shoot and depends on the chemical status of both compartments (DENNY 1972, 1980, BARKO & SMART 1981, RATTRAY *et al.,* 1991, SHARDENDU & AMBASHT 1991). Most studies in the laboratory have demonstrated the main, even exlusive, role of sediment in the phosphorus nutrition of aquatic macrophytes, but shift mechanisms are known to take place between water and sediment (BEST & MANTAI 1978, CARIGNAN & KALFF 1979, RATTRAY *et al.,* 1991). Field studies, more particularly in the hydrological network of the upper Rhine floodplain, showed a good relationship between the trophic level of water and the distribution of macrophytes, which leads to the establishment of a bioindication scale from oligotrophic to eutrophic level of water based on macrophyte communities (CARBIENER & ORTSCHEIT 1987, CARBIENER *et al.,* 1990, ROBACH *et al.,* 1991).

The objectives of this study are to analyse the importance of the open water compartment for the phosphorus nutrition of aquatic plants, to estimate the relative proportion of root and foliar uptake, and to specify the role of phosphorus in the determinism of aquatic vegetation in running waters. We focus on the monitoring of the amounts of phosphorus in the three compartments of the system (water, sediment and plant). Two series of analytical determination were carried out. The first concerns the relationship between the soluble phosphorus of water and P leaf content of 14 aquatic macrophytes in field condition. We sampled water, sediment and plants on seven dates in 28 water courses, which corresponds to 92 sampling sites in the hydrological network of Alsace Rhine floodplain (fig.1). Measurements were made of total phosphorus in sediment and plant after mineralisation, soluble phosphate in water and exchangeable P in sediment.

The second series was carried out under controlled laboratory conditions to study the phosphorus leaf uptake by rooted or unrooted plant, sujected to a gradient of concentrations of phosphate in water. We chose to test a species with a wide large ecological distribution, *Elodea nuttallii*. The shoots were cultivated in 10 l aquarium water with the following characteristics: cond. > 600 µS. cm^{-1}, 250 mg HCO_3^-. l^{-1}, 100 mg Ca. l^{-1}, $N\text{-}NH_4^+ < 10$ µg. l^{-1}, $N\text{-}NO_3^- > 3$ mg. l^{-1}, at 15 °C (±1 °C) and under a light intensity of 5000 lux (photoperiod 14 h light/10 h obscurity). Two experiments were carried out: 1) unrooted plants were cultivated in water with different concentrations of soluble phosphate. 2) rooted shoots were planted in a eutrophic sediment (200 ml, which corresponds to 15-20 g dry weight, containing 1000 µg P total. g^{-1}, 80 µg exchangeable P. g^{-1}). The sediment is being isolated from water.

In both cases, the change of concentrations in water was followed during three days. At the end of the experiment, total P in plant, exchangeable and total P in sediment were measured.

In a second series of experiments, a water flux circulates in the aquarium, to maintain the phosphate concentration constant. This series was conducted without sediment. Twelve shoots were sampled every day during three days to analyse total plant P.

The results of the field measurements show a high inter- and intraspecific variability of mean amounts of leaf phosphorus (TAB. II). Thus the plants of oligotrophic or mesotrophic waters have amounts lower than those of eutrophic waters. Moreover, we observe that the intraspecific variability is higher in the plants of eutrophic waters (see for example 3.3 à 12.2 mg P. g^{-1} in *Elodea nuttallii*, 2.7 to 13.6 mg P. g^{-1} in *Ceratophyllum demersum*) than in those of the oligotrophic milieu (1.2 to 2.9 mg P. g^{-1} in *Potamogeton coloratus*). We established a hyperbolic relationship between the annual mean amounts of leaf P and the concentrations of phosphate in water for four plants (*Callitriche obtusangula, Elodea nuttallii*, *Elodea canadensis* and *Berula erecta,* FIG. 3). This relationship shows a maximum uptake in the shoot of the four macrophytes when the water phosphate concentrations exceed 100 µg. l^{-1}. This maximum corresponds to a saturation of storage sites, phosphorus being stored in polyphosphate form (EBEL *et al.,* 1965, FOGG 1973, KULAEV 1979). On the other hand, no relation is established between sediment P and leaf P.

Under controlled laboratory conditions, the phosphorus uptake by plants increases with the phosphate concentrations in water, whether they are rooted or unrooted, up to 500 µg. l^{-1} $P\text{-}PO_4$ (FIG. 4). The comparison of the experiments with and without sediment show that for the same concentration of phosphate in water, the uptake from water is lower when the plants have two nutrient sources (FIG. 5), which could be explained by a shift mechanism with root nutrition. Moreover, the leaf storage is higher when the open water is the only source of P (FIG. 6). The leaf uptake is mainly related to the initial P concentration in water, whatever the culture medium, with and without sediment. When the phosphorus concentration is maintained constant by renewal of culture medium, no significant relationship between phosphate in water and leaf P is found.

In conclusion, we can say that the foliar uptake is an important mechanism in phosphorus nutrition, even though it can be relayed by uptake from sediment. The leaf uptake is dependent on the phosphate in water. Moreover, the plant is able to store phosphorus, more particularly in eutrophic waters, where we know there are high variations of trophic level. *Elodea nuttallii* has higher ability to store phosphorus than *Elodea canadensis*. This can explain the distribution of both plants in running waters: *E. nuttallii* grows mainly in eutrophic even hypertrophic waters and *E. canadensis* in mesotrophic waters. *E. nuttallii* uses phosphorus from water and/or from sediment, and the accumulation is higher when the water is the only source of phosphorus.

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 215-222

L'ACTIVITÉ NITRATE RÉDUCTASE CHEZ LES PLANTES AQUATIQUES : UN OUTIL BIOLOGIQUE DU SUIVI DE LA CONTAMINATION AMMONIACALE*

Thierry ROLLAND, Fabienne ROBACH, Michèle TRÉMOLIÈRES & Séverine DESTER

Laboratoire de Botanique et d'Écologie Végétale, CEREG, URA 95 CNRS, IFARE.
Institut de Botanique, 28 rue Goethe, 67083 Strasbourg Cedex, France.

SUMMARY
(original scientific paper)

NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN AQUATIC PLANTS AS AN INDICATOR OF AMMONIA NITROGEN CONTAMINATION.

Nitrate Reductase Activity (NRA) of two species of Elodea, Elodea canadensis *Le Gall and* Elodea nuttallii *St. John, was tested as an indicator of ammoniacal nitrogen contamination. This study was conducted on 9 streams of the Alsatian floodplain, which display a wide range of water ammoniacal nitrogen concentrations. The seasonal variations of the NRA was studied in relation to the nitrogen trophic status of the site (defined as NH_4^+/NO_3^- ratio). Maximum levels of NRA in* Elodea nuttallii *were reached for high NH_4^+/NO_3^- ratios, while* Elodea canadensis *displayed the opposite pattern. A weak relationship was found between NRA of one individual species and the global NH_4^+/NO_3^- ratio over all sites where this species was found. The correlation was stronger when sites where taken individually (from $r = 0.64$ to $r = 0.88$). The variability of NRA could be linked to intra- and inter-specific processes. The correlations between plant NRA and mean NH_4^+/NO_3^- ratios on different sample sites, water NO_3^- concentrations , and water NH_4^+ concentrations, respectively indicate that the NRA could be used as an indicator of water contamination.*

KEY WORDS : Nitrate reductase activity - Bioindicator - *Elodea* - Ammonia nitrogen - Nitrate nitrogen.

RÉSUMÉ
(travail original)

Une méthode simple et rapide de mesure de l'activité de la nitrate réductase (ANR) chez deux Elodées, Elodea canadensis *Le Gall et* Elodea nuttallii, *St. John est proposée comme outil biologique du suivi de la contamination ammoniacale dans différents cours d'eau de la plaine d'Alsace. Son utilisation est testée sur un échantillonnage important, permettant ainsi des comparaisons d'activité entre individus récoltés dans des eaux couvrant une large gamme de concentrations en azote ammoniacal. Les niveaux maxima de l'ANR d'*Elodea nuttallii *sont atteints pour un rapport NH_4^+/NO_3^- élevé, alors que des pics de l'ANR d'*Elodea canadensis *sont enregistrés pour un rapport faible. Une analyse de régression a montré qu'il existait une relation linéaire faible entre l'ANR et le rapport NH_4^+/NO_3^- pour l'ensemble des sites regroupant chaque espèce au cours du temps. Des relations linéaires plus fortes ont été trouvées site par site (de $r = 0.64$ à $r = 0.88$). Les niveaux de l'ANR seraient liés à la fois à des critères intra- et inter-spécifiques. Des corrélations entre l'ANR des 2 espèces confondues d'une part et les valeurs moyennes du rapport NH_4^+/NO_3^- ou des teneurs en NH_4^+ et en NO_3^- d'autre part, montrent que l'ANR peut être un indicateur de la charge azotée du milieu, et plus particulièrement des teneurs en NH_4^+.*

MOTS CLÉS : Activité nitrate réductase - Indicateur biologique - Élodées - Azote ammoniacal - Azote nitrique.

* Manuscrit reçu le 6 février 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 30 avril 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

INTRODUCTION

Les nitrates constituent la forme préférentielle d'absorption de l'azote chez les plantes, dont l'assimilation s'opère par réduction des nitrates en nitrites grâce à une enzyme, la nitrate réductase (NR). La NR est un exemple caractéristique d'enzyme dont la synthèse est induite par la présence de son substrat (LEE & STEWART, 1978) et généralement réprimée par la présence d'azote ammoniacal ou un des produits secondaires de son assimilation (GIVAN, 1979).

L'utilisation de l'activité nitrate réductase (ANR) comme bioindicateur de disponibilité des nitrates a fait l'objet de nombreuses études chez les plantes terrestres (AL GHARBI & HIPKIN, 1984 ; HÖGBERG *et al.,* 1986 ; GEBAUER *et al.,* 1988 ; HÖGBOM & HÖGBERG, 1991 ; HÖGBÖM ET OHLSON, 1991 ; ODASZ, 1994). Les travaux synthétisés par LEE & STEWART (1978) ont montré que les niveaux d'ANR pouvaient être utilisés comme indicateur de la nutrition nitrique chez les plantes. Ainsi, TAYLOR *et al.* (1982) démontrèrent que l'ANR chez *Deschampsia flexuosa* suivait les variations saisonnières de la minéralisation de l'azote dans le sol. HÖGBOM & HÖGBERG (1991) ont utilisé le test de l'ANR *in vivo* pour étudier les variations temporelles de la dynamique du nitrate dans des sols forestiers après fertilisation. Un des avantages majeurs de l'estimation de la disponibilité des nitrates dans le sol par la mesure de l'ANR dans les plantes réside dans le fait que de faibles concentrations et flux en nitrate peuvent être détectés (OHLSON & HÖGBOM, 1993). L'ANR d'une plante semble donc refléter la disponibilité des nitrates dans son habitat.

Cependant, au sein d'un même habitat, des différences d'ANR entre espèces peuvent être importantes (LEE & STEWART, 1978 ; STEWART & OREBAMJO, 1983 ; AL GHARBI & HIPKIN, 1984). Ceci peut indiquer, soit des différences interspécifiques, soit l'influence de facteurs phénologiques, âge de la plante, rythmes diurnes, ou encore environnementaux, ensoleillement, hygrométrie... De même, dans les écosystèmes aquatiques, les plantes, soumises aux mêmes conditions environnementales, peuvent montrer une activité nitrate réductase "*in situ*" très variable en fonction de l'espèce étudiée (MELZER & EXLER, 1982). Selon MELZER (1980), il n'y a pas de différence notable dans l'activité de cette enzyme mesurée *in situ* entre les plantes de milieux riches en nitrates et celles de milieux riches en azote ammoniacal. Ce résultat paraît être en contradiction avec les résultats obtenus expérimentalement par de nombreux auteurs qui ont montré que l'ANR était inhibée en présence de concentrations fortes en azote ammoniacal (OREBAMJO & STEWART, 1975 a, b ; LEE & STEWART, 1978 ; MELZER & EXLER, 1982).

Par ailleurs, des résultats récents obtenus par notre laboratoire (CARBIENER *et al.,* 1990) indiquent clairement que deux éléments déterminants de la chimie de l'eau sont impliqués dans la répartition de la végétation aquatique : le phosphore sous la forme d'ortho-phosphates et l'azote sous la forme ammoniacale. Cependant, dans le réseau hydrographique de la plaine d'Alsace (Est de le France), l'influence des nitrates sur la composition des phytocénoses aquatiques serait négligeable, en raison des teneurs en azote nitrique toujours supérieures à celles limitantes pour la végétation (CARBIENER *et al.*, 1990). De plus, nous avons montré expérimentalement (DENDENE *et al.,* 1993 ; ROLLAND & TRÉMOLIÈRES, 1995) que les ions ammonium ont un impact (positif ou négatif) sur l'activité photosynthétique et l'activité nitrate réductase de deux espèces d'Elodées en culture, *Elodea canadensis* étant plus sensible à la toxicité ammoniacale qu'*Elodea nuttallii*, impact assez bien corrélé avec les observations que nous avons pu faire de la répartition de ces espèces *in situ* en fonction de la teneur en $N\text{-}NH_4^+$. On constate en effet que les deux espèces cohabitent dans des eaux mésotrophes à eutrophes, mais *E. canadensis* semble actuellement repoussée vers les secteurs mésotrophes, les secteurs eutrophes étant colonisés par *E. nuttallii* (et par *E. ernstae*), espèce américaine introduite récemment en Europe et concurrençant fortement *E. canadensis*.

L'objectif de cette étude est de tester l'activité nitrate réductase chez ces deux espèces d'Elodées, *Elodea canadensis* Le Gall et *Elodea nuttallii* St. John, comme outil biologique de la dynamique de la charge en azote de certains cours d'eau phréatiques de la plaine d'Alsace. Cette approche, tout à fait originale, n'a jamais été entreprise dans le domaine des systèmes d'eau courante. Elle devrait permettre de préciser l'influence respective des deux sources azotées (NH_4^+ et NO_3^-) sur l'activité de la nitrate réductase mesurée *in situ*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

SECTEUR D'ÉTUDE ET MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les prélèvements ont porté sur 9 cours d'eau du réseau hydrographique de la plaine d'Alsace, de trophie variée allant de l'oligo-mésotrophe (caractérisé par des teneurs en $P\text{-}PO_43^-$ inférieures à 30 ppb et en $N\text{-}NH_4^+$ inférieures à 60 ppb) au très eutrophe (> à 100 ppb en $P\text{-}PO_43^-$ et en $N\text{-}NH_4^+$). 4 sites expérimentaux, numérotés de 1 à 4 (TAB. I), ont fait l'objet de près de deux ans et demi de campagnes de terrain, à un pas de temps mensuel. Les prélèvements sur les 5 autres sites (numérotés de 5 à 9) n'ont porté que sur l'année 1995.

Les échantillons d'Elodées ont été collectés en moyenne à un mètre de profondeur en les coupant à la base. Sur place, un premier lavage est effectué afin d'éliminer une partie du périphyton et du sédiment présent sur

Source : MNHN

TABLEAU I.– Définitions des sites et des moyennes annuelles des paramètres physico-chimiques (n = nombre de prélèvements).
Sites definitions and annual means of physico-chemical parameters (n = number of samples).

SITES	*Elodea sp.*	*Code	n	T° °C	pH	cond. µS/cm	% O_2	N-NH_4^+ µg/l	N-NO_3^- mg/l	N-NO_2^- µg/l	P-PO_4^{3-} µg/l	Ntotal mgN/g
BRUNNENWASSER	***E. canadensis***	1	18	12,2	7,5	634	47	66	2,1	10	19	34
LACHTER	***canadensis***	2	18	13,8	8	688	70	57	4,1	15	16	31
ISCHERT	***E. nuttallii***	3	20	13,4	7,8	504	65	63	3,4	20	31	37
LAUFGRABEN	***nuttallii***	4	20	12,7	7,7	636	68	45	6,3	18	17	36
NEUGRABEN	***nuttallii***	5	4	9,9	7,6	569	91	218	2,8	70	154	43
ISTERGRABEN	***nuttallii***	6	5	12,6	7,9	662	80	36	2,1	9	12	37
C.C.D	***E. canadensis***	7	5	12	7,7	595	80	38	1,5	7	27	36,4
RIEDBRUNNEN	***canadensis***	8	4	10,3	7,3	857	61	28	7,6	13	17	37,2
HORGIESSEN	***canadensis***	9	4	10,2	7,5	697	74	41	3,2	30	41	37,5

les rameaux. Pour le transport, les échantillons ont été disposés dans des sacs en plastique larges transparents, renfermant un certain volume d'eau du site. Au laboratoire, des lavages supplémentaires à l'eau déminéralisée ont été effectués. Les dosages et mesures d'ANR ont été réalisés le jour même, dès le retour au laboratoire, par ordre d'échantillonnnage en respectant le délai entre chaque prélèvement (délai maximal de 4 heures).

MÉTHODES

a) Mesure de l'ANR : la mesure *in situ* de l'ANR, adaptée du protocole proposé par ROBIN *et al.* (1983) pour les plantes terrestres, nécessite une incubation de la plante dans une enceinte hermétique, en anoxie et à l'obscurité. Les dosages ont été réalisés sur les parties sommitales uniquement (les 3 ou 4 premiers centimètres en partant de l'apex). Pour la mesure, l'échantillon végétal, après sa pesée (entre 0.2 et 0,5 g de poids frais) a été introduit dans un tube de 15 ml en pyrex coiffé d'un bouchon en caoutchouc pour assurer l'étanchéité. L'anoxie a été réalisée par l'intermédiaire d'un balayage d'azote pendant 60 s. dans le tube grâce à deux aiguilles piquées dans le bouchon. La pression de sortie est de 1,5 bar. L'incubation sous azote et à l'obscurité est réalisée dans une étuve à 30 °C pendant une heure. Le tampon d'incubation est un tampon phosphate 0,1 M, pH 7,5. Le volume du milieu d'incubation est de 4 ml. L'imbibition des tissus est réalisée en plongeant la base des échantillons dans le liquide d'incubation. Les concentrations en NO_3^- dans le milieu d'incubation ont été fixées à 100 mM pour les échantillons d'*E. canadensis* et à 25 mM pour ceux d'*E. nuttallii*. En effet, des cinétiques d'accumulation de nitrites en fonction de la concentration en NO_3^- du milieu d'incubation ont montré que ces concentrations respectives permettent d'obtenir une accumulation maximale de nitrites chez ces 2 espèces.

L'extraction des nitrites est réalisée habituellement par chauffage, mais nous avons montré que le chauffage pouvait entraîner des pertes de nitrites, probablement sous la forme HNO_2. Le dosage des nitrites a donc été effectué directement sur le liquide d'incubation. Après filtration sur papier filtre millipore, on prélève une aliquote de 1 ml à laquelle 0,5 ml de sulfanilamide à 10 g. l^{-1} dans HCl 3N et 0,5 ml N-naphtyl-éthylène-diamine-dichlorure à 0,2 g. l^{-1} sont rajoutés. La lecture de la densité optique se fait à 540 nm. Les résultats ont été exprimés en micromoles de nitrites accumulés par heure et par gramme de matière végétale fraîche. Les valeurs sont les moyennes de 4 à 6 répétitions.

b) Analyse des paramètres chimiques : Les paramètres de la trophie - ortho-phosphates (Norme AFNOR (1986) NF T 90-023), azote ammoniacal (Norme AFNOR (1986) NF T 90-015) et azote nitrique - des différents sites étudiés ont été dosés dans l'eau afin de suivre leur évolution au cours du temps.

c) Dosage de l'azote total dans les plantes : le dosage de l'azote total a été effectué après une minéralisation à chaud selon la méthode de Kjeldahl.

Ces différentes analyses ont été réalisées à l'aide d'un auto-analyseur à microflux continu (Alliance Instruments).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les niveaux d'activité de la NR sont faibles pour les 2 espèces (0 à 0,06 mmol NO_2^-. h^{-1}. g^{-1} MF pour *E. nuttalllii*, 0 à 0,025 pour *E. canadensis*) et sensiblement inférieurs à ceux observés chez les plantes terrestres (0.2 mmol NO_2^-. $h^{-1}.g^{-1}$ MF comme activité de base, appelée aussi activité constitutive, *sensu* LEE & STEWART, 1978). MELZER & EXLER (1982) ont comparé l'ANR de 12 macrophytes aquatiques *in situ* : les activités mesurées s'échelonnaient de 0,01 mol NO_2^-. $h^{-1}.g^{-1}$ MF pour *Fontinalis antipyretica* à 0,5 mol NO_2^-. $h^{-1}.g^{-1}$ MF pour *Potamogeton crispus*. Une activité de 0,07 mol NO_2^-. $h^{-1}.g^{-1}$ MF a été relevée chez

Source : MNHN

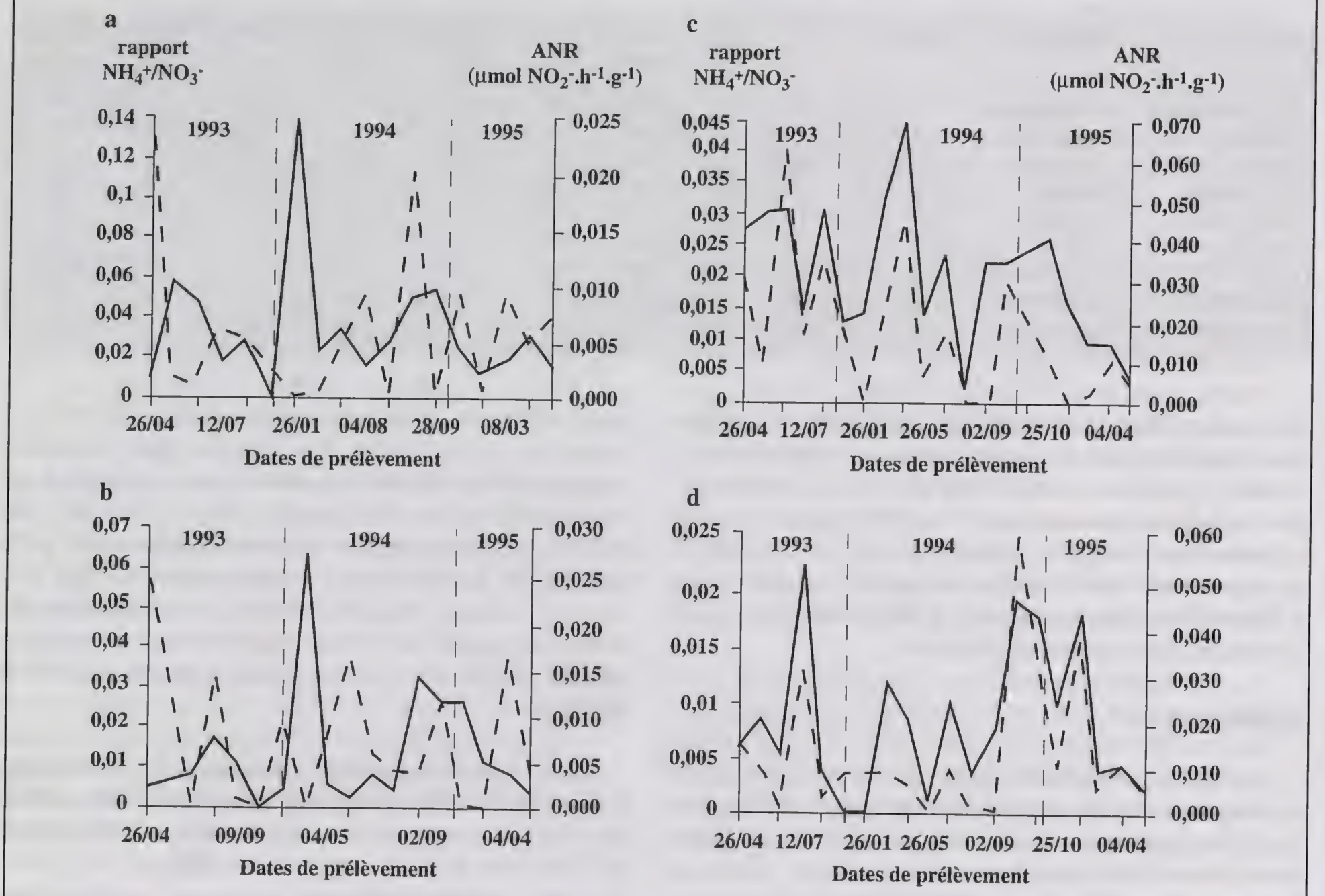


FIG. 1.– Variations saisonnières de l'activité nitrate réductase (ANR) chez 2 espèces d'Elodées et du rapport NH_4^+/NO_3^- dans 4 cours d'eau (a, b, c, d) du réseau hydrographique de la plaine d'Alsace.

Seasonal variations of nitrate reductase activity (NRA) in two Elodea *species and of the NH_4^+/NO_3^- ratio of 4 streams (a, b, c, d) of the Alsatian hydrological network.*

E. canadensis, ce qui se situe dans l'ordre de grandeur des mesures que nous avons faites pour cette même espèce.

Les variations temporelles de l'ANR sont très importantes (FIG. 1) et ne semblent pas indiquer de tendances saisonnières fortes. Cependant, dans 3 des 4 sites (numérotés de 1 à 3, cf. TAB. 1) ayant fait l'objet d'une campagne de terrain portant sur deux ans et demi de prélèvements, on relève un pic maximum d'activité au début du printemps, c'est-à-dire pendant la période de reprise de la végétation. Des activités moyennes sont enregistrées en été et les niveaux les plus bas sont mesurés en hiver. Dans le site 4, le pic maximum d'activité est atteint en septembre 1994 (0,062 mol $NO_2^-.h^{-1}.g^{-1}$ MF pour *E. nuttallii*) ; on relève également une activité importante fin janvier 1995, alors que c'est la période où l'activité mesurée est la plus basse chez les 2 espèces pour les autres sites. Il y a donc une variabilité spatiale, mais également une variabilité interspécifique voire intraspécifique importante selon l'espèce.

Le rapport NH_4^+/NO_3^- montre des fluctuations importantes au cours du temps. Aux valeurs extrêmes, deux tendances opposées se dessinent, en fonction de l'espèce. Dans les sites où *E. canadensis* est présente (1 et 2), l'ANR est faible quand le rapport NH_4^+/NO_3^- atteint des valeurs fortes (> à 0,04). La tendance s'inverse dans les sites où *E. nuttallii* est présente (3 et 4). Ces résultats sont étayés par une étude expérimentale réalisée dans les conditions de laboratoire sur l'effet toxique de l'azote

Source : MNHN

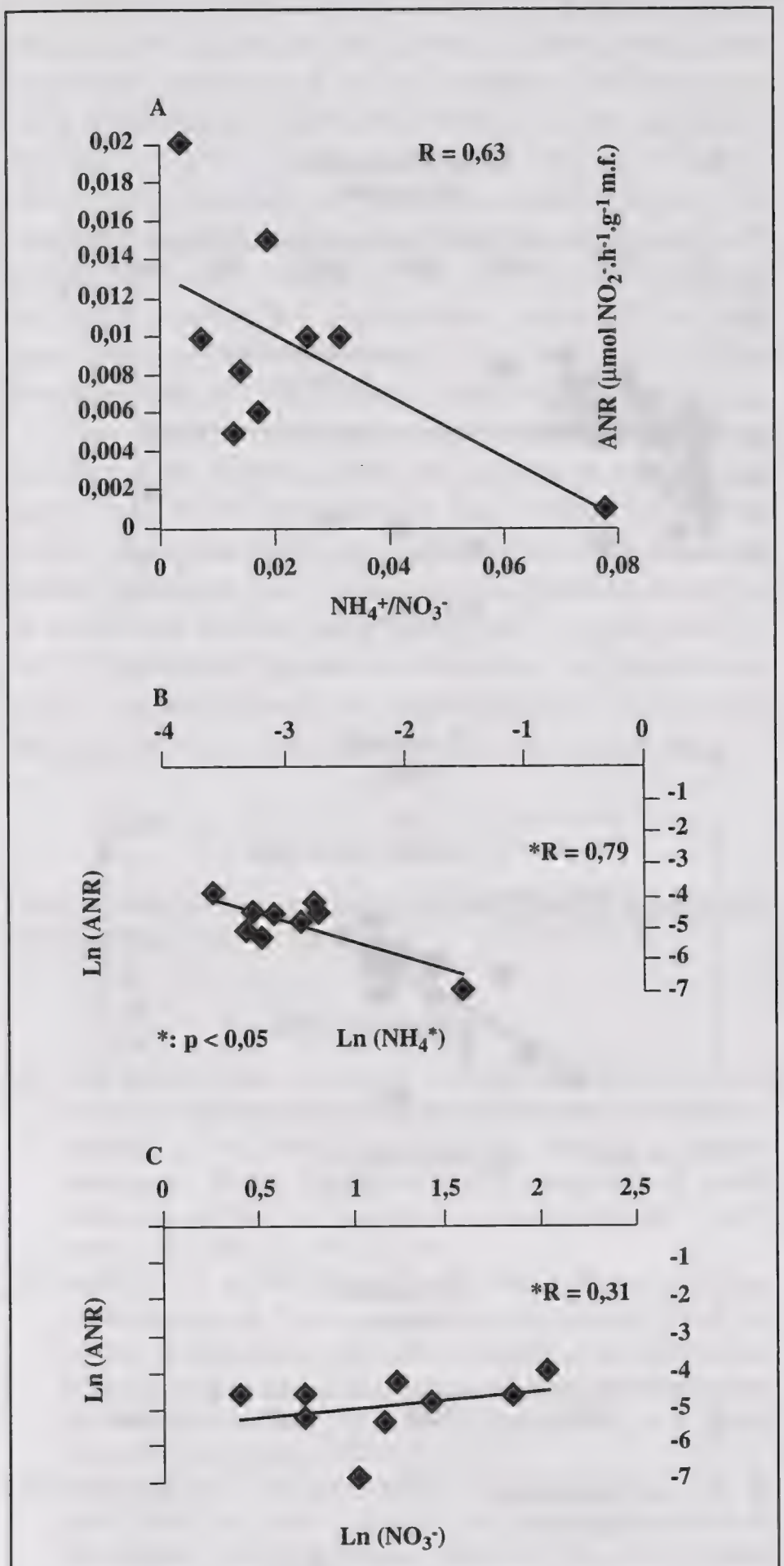


FIG. 2.– Relation entre les valeurs moyennes du rapport NH_4^+/NO_3^- et les valeurs moyennes de l'activité nitrate réductase (ANR) (**A**), les teneurs en N-NH_4^+ et les valeurs moyennes de l'ANR (**B**), les teneurs en N-NO_3^- dans l'eau et les valeurs moyennes de l'ANR (**C**) des 2 espèces d'Elodées pour tous les sites confondus. *Chaque donnée est une moyenne sur l' ensemble de la période de prélèvement.*

*Correlations between mean NH_4^+/NO_3^- ratio and mean nitrate reductase activity (NRA) (**A**), between mean water N-NH_4^+ concentration and mean NRA (**B**), and between mean water N-NO_3^- concentration and mean NRA (**C**) of the two species of Elodea on all sample sites.* Each value is a mean value of the entire sample period.

ammoniacal sur ces deux espèces : cette étude montre que l'activité de la nitrate réductase d'*E. canadensis* est inhibée de 50 % à des concentrations inférieures à 0.5 mg. l^{-1} en N-NH_4^+, alors qu'un tel pourcentage d'inhibition n'est atteint que pour des concentrations supérieures à 1 mg. l^{-1} pour *E. nuttallii* (ROLLAND & TRÉMOLIERES, 1995).

En 1995, le réseau de mesures a été étendu. Les variations temporelles de l'ANR et du rapport NH_4^+/NO_3^- ont été comparées sur les 9 stations où chaque espèce d'Elodée est présente individuellement. Dans le cas où les sites comprenant respectivement chaque espèce ont été regroupés, une relation linéaire a été trouvée entre le rapport des concentrations en NH_4^+/NO_3^- et l'ANR au cours du temps, bien que cette corrélation soit assez faible (respectivement $r = 0,53$, $n = 49$, $p < 0,01$, pour *E. canadensis,* $r = 0,18$ $n = 49$ pour *E. nuttallii*, $p < 0,01$) (FIG. 3). Ces coefficients peuvent s'expliquer par la variabilité intraspécifique importante dans les niveaux d'activité des 2 espèces. Cependant, des relations linéaires plus fortes ont été obtenues site par site (de $r = 0,64$, $n = 18$, $p < 0,01$ pour le site 1 à $r = 0,88$, $n = 5$, pour le site 6) (FIG. 3). Ces résultats montrent que le niveau d'activité de la NR dépend en partie de l'espèce, mais également du comportement écologique, c'est-à-dire de la préférence pour des sites dont le rapport des teneurs NH_4^+/NO_3^- est plus ou moins élevé.

Ainsi, lorsque le rapport NH_4^+/NO_3^- est élevé, imputable aux teneurs en NH_4^+ dans le milieu principalement (le paramètre nitrate étant relativement constant au cours du temps dans un même cours d'eau, CARBIENER *et al.* 1990), la réponse des deux espèces semble se répartir en fonction de leur sensibilité à la présence d'azote ammoniacal dans le milieu, l'ANR mesurée chez *E. nuttallii* étant élevée dans ce cas alors que celle d'*E. canadensis* est basse. De même lorsque ce rapport est bas, l'ANR des deux espèces varie en sens opposé. L'ANR mesurée in situ chez ces deux espèces semble donc dépendre, aux valeurs extrêmes du rapport, de la présence ou de l'absence de concentrations élevées en azote ammoniacal dans le milieu. Le dosage de l'ANR pourrait donc renseigner sur un état de contamination du milieu, mais également sur la capacité de telle ou telle espèce à coloniser des milieux riches en azote ammoniacal, donc sur leur écologie.

Une relation linéaire ($r = 0,63$, $n = 9$) a également été trouvée entre les valeurs moyennes du rapport NH_4^+/NO_3^- des différents sites sur l'ensemble de la période de prélèvement et l'ANR des 2 espèces confondues (FIG. 2). Les ions NH_4^+ ont un poids plus fort dans cette relation ($r = 0,79$, $n = 9$, $p < 0,01$) que les ions NO_3^- ($r = 0,31$, $n = 9$).

Les résultats obtenus montrent que l'activité de la nitrate réductase des deux espèces d'Elodées étudiées peut être un indicateur de la charge azotée du milieu, et plus particulièrement des teneurs en NH_4^+. L'intérêt de l'utilisation de l'outil biologique ne réside pas dans le simple

Source : MNHN

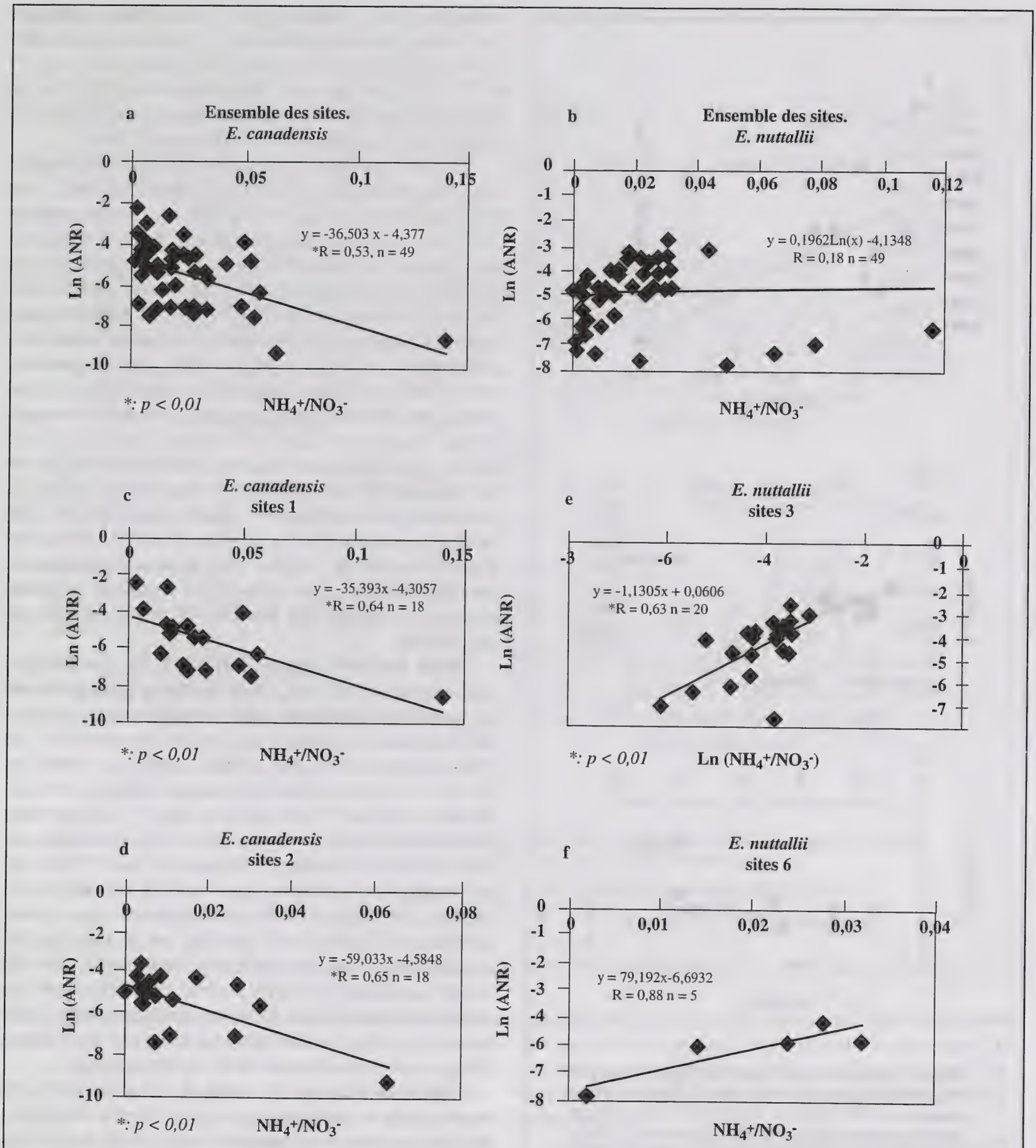


FIG. 3.– Relation entre l'activité nitrate réductase (ANR) et le rapport NH_4^+/NO_3^- pour les différents sites de l'étude.
En incrustation, sont indiqués les coefficients de détermination et le type de relation trouvée entre les 2 variables.

Relationship between nitrate reductase activity (NRA) and NH_4^+/NO_3^- ratio on the different sites under study.
The rank correlations and the type of relationship found between the two variables are specified in the figures.

Source : MNHN

fait de la caractérisation d'un état de contamination ammoniacale du milieu, ce à quoi l'analyse physico-chimique peut répondre. Il permet également de renseigner sur la disponibilité en azote du cours d'eau par opposition aux analyses physico-chimiques qui ne sont guère significatives qu'au moment et à l'endroit du prélèvement. Cette notion de disponibilité est fondamentale puisqu'elle permettrait d'évaluer l'impact d'une pollution ammoniacale sur la composition des phytocénoses aquatiques et ainsi, renseigner sur l'effet à moyen et long terme d'une telle contamination sur l'équilibre du cours d'eau.

Cette étude serait à poursuivre en étendant le réseau de cours d'eau étudiés, voire en prenant en compte des cours d'eau où les deux espèces sont présentes (vérification de leur abondance respective). Un échantillonnage portant également sur d'autres espèces permettrait de tester la validité de cet "outil biologique". L'utilisation de l'ANR permettrait également d'étudier et de mieux comprendre les phénomènes de compétition entre espèces et le rôle joué par l'azote ammoniacal dans cette compétition.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par l'Institut Franco-Allemand de Recherche sur l'Environnement (I.F.A.R.E.).

BIBLIOGRAPHIE

AFNOR, 1986.– Eaux : méthodes d'essais. Recueil de normes françaises, Association française de normalisation, Paris, 624 p.

AL GHARBI, A. & HIPKIN, C. R., 1984.– Studies on nitrate reductase in British Angiosperms. I. A comparison of nitrate reductase activity in ruderal, woodland-edge and woody species. *New. Phytol.*, 97 : 629-639.

CARBIENER, R. & ORTSCHEIT A., 1987.– Wasserpflanzengesellschaften als Hilfe zur Qualitäts-überwachung eines der grössten Grundwasser-Vorkommens Europas (Oberrheinebene). *Vegetation Ecology and creation of New environments. Proceed. Intern. Sym. Tokyo*. In : MIYAWAKI A. *et al.* (eds). Tokai University Press : 284-312.

CARBIENER, R., TRÉMOLIÈRES, M., MERCIER, J.L. & ORTSCHEIT, A., 1990.– Aquatic macrophyte communities as bioindicators of eutrophication in calcareous oligosaprobe stream waters (Upper Rhine plain, Alsace). *Vegetatio,* 86 : 71-88.

DENDENE, M.A., ROLLAND, T., TRÉMOLIÈRES, M. & CARBIENER, R., 1993.– Effect of ammonium ions on the photosynthesis of three species of Elodea. *Aquatic Botany,* 46 : 301-315.

GEBAUER, G., REHDER, H. & WOLLENWEBER, B., 1988.– Nitrate, nitrate reduction and organic nitrogen in plants from different ecological and taxonomic groups of Central Europe. *Oecologia* (Berlin), 75 : 371-385.

GIVAN, C. V., 1979.– Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. *Phytochemistry* 18 : 375-382.

HÖGBERG, P., GRANSTRÖM, A., JOHANSSON, T., LUNDMARK-THELIN A., & NÄSHOLM T., 1986.– Plant nitrate reductase activity as an indicator of availability of nitrate in forest soils. *Can. J. For. Res.,* 16 : 1165-1169.

HÖGBOM, L., & OHLSON, M., 1991.– Nitrate assimilation in coexisting vascular plants in mire and swamp forest habitats in Central Sweden. *Oecologia*, 87 : 495-499.

HÖGBOM, L. & HÖGBERG, P., 1991.– Dynamics of soil nitrate after forest fertilization as monitored by the plant nitrate reductase assay. *For. Ecol. Man.*, 44 (2-4) : 223-238.

LEE, F. G., 1973.– Role of phosphorus in eutrophication and diffuse source control. *Wat. Res.*, 7 : 111-128.

LEE, J.A. & STEWART, G.R., 1978.– Ecological aspects of nitrogen assimilation. *Advance Bot. Research,* 6 : 2-43.

MELZER, A., 1980.– Ökologische Aspekte der N-Ernährung submerser Wasserpflanzen. *Verh. Ges. Ökol.*, 8 : 357-362.

MELZER, A. & EXLER, D., 1982.– Nitrate reductase activities in aquatic macrophytes. *Studies on aquatic vascular plants*, In : J. J. SYMOENS. S. S. HOOPER & P. COMPERE (eds). Royal Botanical Society of Belgium. Brussels : 128-135.

ODASZ, A.M., 1994.– Nitrate reductase activity in vegetation below an arctic bird cliff, Svelbard, Norway. *Journal of vegetation Scienc.,* 5 : 913-920.

OHLSON, M. & HÖGBOM, L., 1993.– Species-specific dynamics in nitrate reductase activity in coexisting swamp forest plants. *Journal of Ecology,* 81 : 739-744.

OREBAMJO, T.O. & STEWART, G.R., 1975, a.– Ammonium repression of nitrate formation in *Lemna minor* L. *Planta*, 122 : 27-36.

OREBAMJO, T.O. & STEWART, G.R., 1975, b.– Ammonium inactivation of nitrate formation in *Lemna minor* L. *Planta*, 122 : 37-44.

ROBIN, P., CONEJERO, G., TRANCHANT, J.P., PASSAMA, L. & SALSAC, L., 1983.– Mesure de la réduction du nitrate dans les feuilles intactes. *Physiol. Vég.*, 21 : (1), 123-128.

ROLLAND, T., 1995.– Approche écophysiologique du rôle de l'azote ammoniacal dans la répartition de deux macrophytes aquatiques, *Elodea canadensis* Michx. et *Elodea nuttallii* ST John. Impact sur l'activité nitrate réductase et l'activité photosynthétique. Thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, 303 p.

ROLLAND, T, & TREMOLIÈRES, M, 1996.– The role of ammonium in the distribution of two species of Elodea. *Acta Botanica Gallica,* 142 : 733-740.

STEWART, G.R. & OREBAMJO, T.O., 1983.– Studies of nitrate utilization by the dominant species of regrowth vegetation of tropical West Africa : a Nigerian example. *Nitrogen as an ecological factor* In : EE, J.A., Mc NEIL S., RORISON, I.H. (eds). Blackwell Sci. Publ., Oxford London Edinbourg Boston Melbourne : 167-188.

TAYLOR, A.A., DE-FELICE, J. & HAVILL, D.C., 1982.– Seasonal variations in nitrogen availability and utilization in an acidic and calcareous soil. *New. Phytol.*, 92 : 141-152.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

Studies summarized by LEE & STEWART (1978) have shown that the levels of nitrate reductase activity (NRA) can be used as an indicator of the nitrate nutrition of terrestrial plants. One main advantage of estimating the availability of soil nitrate by measuring the nitrate reducing enzyme system in plants is that fluxes and low concentrations of nitrate in the soil can be detected (OHLSON & HÖGBOM, 1993). NR activity is therefore of considerable ecological interest. However, no study has focused on temporal nitrogen variations in aquatic ecosystems using plants NRA. We report the

Source : MNHN

possibility of using the NRA of two species of *Elodeae, Elodea canadensis* Le Gall and *Elodea nuttallii* St. John, as a direct indicator of ammonia nitrogen contamination of streams of the Alsatian floodplain (Eastern France).

The physico-chemical characteristics of the sites are given in table 1. An in vivo method derived from ROBIN *et al.* (1983) and adapted to aquatic macrophytes was used to measure the NRA (ROLLAND, 1995).

Seasonal variations of the NRA were studied in relation to the nitrogen trophic status of the site (defined by the NH_4^+/NO_3^- ratio). Temporal variations of the NRA were high as shown in Figure 1, but no seasonal trends could be detected. However, species-specific variations in NRA were mesasured at extreme values of the NH_4^+/NO_3^- ratio. Maximum levels of NRA in *Elodea nuttallii* were reached at a high NH_4^+/NO_3^- ratio, whereas *Elodea canadensis* showed the opposite pattern. There was a correlation between NRA of one individual species and NH_4^+/NO_3^- ratio in all sites where this species is found over time (FIG. 3), but the correlation was low, even though higher for *E. canadensis* ($r = 0.53$, $n = 49$, $p < 0.01$) than for *E. nuttallii* ($r = 0.18$) where this was not significant. The strongest correlation was found within each individual site (from $r = 0.64$ to $r = 0.88$), showing that NRA levels of the two species could be linked to interspecific ecological preferences according to their trophic status. NRA of plants correlated better with NH_4^+ concentrations ($r = 0.79$, $p < 0.01$, FIG. 2) than with NO_3^- concentrations, showing that it could be used as an indicator of ammonia nitrogen contamination and especially of bioavailability. This concept is important because it would allow us to estimate the impact of an ammonia pollution on the floristic composition and distribution of phytocenoses.

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 223-232

ÉTUDE DES GROUPEMENTS DE MACROPHYTES VASCULAIRES AQUATIQUES DE LA SEMOIS EN RAPPORT AVEC LA QUALITÉ GLOBALE DES EAUX ET DU MILIEU*

Daniel THOEN, Laurence ROUSSEL & Jacques NICOLAS

Fondation Universitaire Luxembourgeoise (F.U.L.)
Avenue de Longwy, 185 - B-6700 Arlon, Belgique.

SUMMARY
(original scientific paper)

STUDY OF THE AQUATIC VASCULAR MACROPHYTE VEGETATION OF THE SEMOIS RIVER IN RELATION WITH THE GLOBAL QUALITY OF WATER AND AQUATIC ENVIRONMENT.

Associations of aquatic macrophytes in the Semois river (ca. 200 km long) were described by the analysis of 218 vegetation sample units during the year 1994. Six successive plant associations were recognized along the river. They were related to natural environmental conditions and to anthropic perturbations. Two main zones were distinguishable in the river. In the upstream zone, the potential vegetation was destroyed or replaced by new plant associations, more resistant to organic pollution: Sparganium emersum *and* Potamogeton natans *associations;* Potamogeton pectinatus *association. In the downstream zone, the* Ranunculetum fluitantis *associations are closer to the potential vegetation and indicate better conditions of the aquatic environment. A preliminary canonical correspondence analysis (CCA) on the main aquatic plant species and the physico-chemical parameters of the water on 40 sites showed a grouping of species with similar needs and highlighted their relative indicator values for some abiotic factors.*

KEY WORDS : Macrophyte - River - Bioindication - Water quality - Canonical correspondence analysis - Phytosociology.

RÉSUMÉ
(travail original)

Les groupements de macrophytes aquatiques de la Semois (ca. 200 km de long) ont été décrits par l'analyse de 218 relevés de végétation réalisés durant l'année 1994. De l'amont vers l'aval, six groupements végétaux ont été caractérisés. Deux zones principales peuvent être distinguées. Dans la zone amont, la végétation potentielle a été détruite ou remplacée par des groupements végétaux, plus résistants à la pollution organique et aux modifications physiques du milieu : groupement à Sparganium emersum *et* Potamogeton natans*; association à* Potamogeton pectinatus. *Dans la zone aval, la présence de groupements relevant du* Ranunculetum fluitantis *est plus conforme à la végétation potentielle et indique de meilleures conditions du milieu. Une analyse canonique des correspondances, sur les principales espèces aquatiques et les paramètres physico-chimiques de l'eau de 40 stations, a permis de regrouper des espèces présentant des affinités écologiques entre elles et de dégager leurs valeurs indicatrices relatives pour certains paramètres abiotiques.*

MOTS CLÉS : Macrophyte - Rivière - Bioindication - Qualité des eaux - Analyse canonique des correspondances - Phytosociologie.

INTRODUCTION

L'intérêt de l'utilisation des macrophytes pour évaluer la qualité de l'eau et du milieu aquatique a été souligné par de nombreux auteurs tels que KOHLER (1971, 1982), MÉRIAUX (1982), WIEGLEB (1983), BLANDIN (1986), KOHLER *et al.* (1987), NEWBOLD & HOLMES (1987), HASLAM (1988), CARBIENER & ORTSCHEIT (1987), KLEIN & CARBIENER (1989), CARBIENER *et al.* (1990), HAURY (1993, 1994), HAURY & PELTRE (1993), GRASMÜCK *et al.* (1995). L'évolution des méthodes incite de plus en plus à considérer les groupements végétaux comme bioindicateurs plutôt que les espèces prises une à une, ceci en raison de l'amplitude écologique plus restreinte des premiers (ISERENTANT & DE SLOOVER, 1976 ; MÉRIAUX, 1982 ; LEGLIZE *et al.*, 1991 ; HAURY, 1994). Jusqu'à présent, la végétation macrophytique aquatique de la Semois n'a été étudiée que de manière sommaire (NOIRFALISE &

* Manuscrit reçu le 20 mars 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 30 octobre 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

DETHIOUX, 1977 : 1 relevé phytosociologique; DETHIOUX & NOIRFALISE, 1985 : 7 relevés; DETHIOUX, 1989a : 10 listes floristiques partielles). Des précisions concernant la distribution d'espèces aquatiques de la Semois ont été publiées récemment par un des auteurs du présent travail (THOEN, 1995).

Dans la présente étude, les liens entre les groupements végétaux aquatiques de la Semois et les altérations d'origine anthropique du milieu et de la qualité des eaux ont été recherchés.

La Semois, depuis Arlon (Belgique) jusqu'à sa confluence avec la Meuse parcourt environ 200 km et traverse deux écorégions (WASSON, 1994) : des terrains riches en calcaire du Jurassique, caractérisés par des activités agricoles dominées par l'élevage (Lorraine), puis des terrains primaires pauvres en éléments biogènes, caractérisés par l'abondance des forêts feuillues et résineuses (Ardennes). Ses eaux riches en calcaire (130 à 165 mg $CaCO_3$/l) dans la partie amont se diluent vers l'aval (51 à 110 mg $CaCO_3$/l) suite aux apports d'affluents ardennais aux eaux plus pauvres en calcaire (6 à 50 mg $CaCO_3$/l).

Le bassin versant de la rivière couvre 1 300 km^2. Les sources majeures de pollution de la Semois, étudiées en particulier par VANDER BORGHT (1980), DEBBAUT *et al.* (1992), sont : les agglomérations, avec principalement la ville d'Arlon (ca. 25 000 hab.), entourant la source même de la rivière, les nombreux (70) camping-caravanings et la pollution diffuse due à l'agriculture et à l'élevage. Il s'agit donc principalement de sources de pollution organique. Il est important de noter que la partie aval de la rivière (après Chiny) est très sollicitée, au printemps et surtout en été (donc en pleine période de végétation) par les nombreux touristes et adeptes de sports nautiques (canoë, kayak, baignades). Soulignons aussi que, contrairement à beaucoup de rivières dont les eaux s'enrichissent naturellement de l'amont vers l'aval (e.g. MÉRIAUX, 1982), la Semois présente des eaux naturellement plus minéralisées dans la partie amont de son cours que dans la partie aval. Cette forte charge minérale naturelle des eaux est encore accrue par les sources de pollution précitées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'échantillonnage a été réalisé de manière systématique dans les zones présentant une végétation aquatique avec, en moyenne, une station représentative par kilomètre courant. Les conditions abiotiques naturelles de la rivière ont été définies en suivant la méthode de LÉGLIZE *et al.*, (1991). Les relevés de végétation ont été réalisés selon la méthode phytosociologique (VANDEN BERGHEN, 1982). La nomenclature suivie pour les plantes vasculaires est celle de la Nouvelle Flore de la Belgique, du G.-D. de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines (LAMBINON *et al.*, 1992). Chaque plante d'un relevé de végétation se voit attribuer un coefficient de quantité (ou d'abondance-dominance) qui indique son abondance relative et son degré de recouvrement. L'échelle utilisée est la suivante :

5, nombre d'individus quelconque, recouvrant plus des ¾ de la surface prospectée; 4, idem, recouvrant de ½ au ¾ de la surface; 3, idem, de ¼ à la ½ de la surface; 2, individus nombreux ou recouvrant au moins 5 % de la surface; 1, individus peu nombreux avec un recouvrement < 5 %; +, un seul individu ou individus peu nombreux avec un recouvrement insignifiant (< 1 %). La surface des relevés est de 125 m^2 en moyenne (47 % des relevés avaient une surface comprise entre 100 et 225 m^2; 40 % une surface inférieure à 100 m^2 et 13 % une surface supérieure ou égale à 250 m^2). Les 218 relevés sont présentés dans un tableau de synthèse, mentionnant pour chaque espèce la classe de présence dans le groupement ou l'association et les valeurs extrêmes du coefficient de quantité (d'abondance-dominance). Cinq classes de présence ont été adoptées : V, espèce présente dans au moins 80 % des relevés; IV, espèce présente dans 60 à 79 % des relevés; III, espèce présente dans 40 à 59 % des relevés; II, espèce présente dans 20 à 39 % des relevés, I, espèce présente dans moins de 20 % des relevés. Ils ont été complétés par la mesure ou l'estimation des paramètres mésologiques suivants : courant (faible, moyen, fort), profondeur, substrat (vaseux, sableux, caillouteux...), turbidité (faible, moyenne, forte), artificialisation du lit, éclairement relatif, conductivité et pH. La conductivité a été mesurée grâce à un conductimètre WTW à température compensée. Les mesures de pH ne sont qu'indicatives en raison des importantes fluctuations de ce paramètre pendant la période de végétation.

Les analyses d'eau ont été réalisées en juin 1993 et mai 1994 par le laboratoire de la F.U.L. (Fondation Universitaire Luxembourgeoise, Arlon) pour la partie belge de la rivière et fournie par la Banque de l'eau Rhin-Meuse (année 1993) pour la partie française. Le logiciel CANOCO (ter Braak, 1987-1992) a été utilisé pour l'analyse canonique des correspondances sur les analyses physico-chimiques des eaux de la Semois et les plantes aquatiques observées aux points de mesures.

Les données floristiques, issues des relevés phytosociologiques effectués à l'endroit même des points de mesure des paramètres physico-chimiques, nous ont permis de leur appliquer une analyse canonique des correspondances. Cette analyse a concerné 40 stations réparties sur l'ensemble de la rivière. Remarquons qu'elle n'est basée que sur des analyses physico-chimiques ponctuelles, aussi les résultats décrits ci-dessous n'ont qu'une valeur relative. On constate d'ailleurs de fortes variations entre les deux dates d'échantillonnage.

L'analyse des correspondances simple établit une structure des données sur la base des espèces et des stations

Source : MNHN

d'observation en mettant en évidence de nouvelles variables qui synthétisent l'information. La forme canonique permet de lui superposer des variables environnementales mesurées, ici les paramètres physico-chimiques, en lui imposant des contraintes supplémentaires.

RÉSULTATS

Une séquence de groupements végétaux relativement bien individualisés a été mise en évidence de l'amont vers l'aval de la Semois. Le tableau I montre de manière synthétique la zonation amont - aval des groupements végétaux aquatiques observés dans la rivière en 1994 ainsi que l'évolution des paramètres physico-chimiques mesurés. On notera que la conductivité et les teneurs moyennes en PO_4 et en NH_4 des eaux diminuent significativement d'amont vers l'aval. Les valeurs moyennes de NO_3, comprises entre 3.1 et 2.02 mgN/l en haute Semois, restent relativement importantes en moyenne Semois (1.64 mgN/l) et en basse Semois (1.64 - 1.80 mgN/l). Les valeurs extrêmes de pH observées en juin 1993 variaient de 7.4 à 9.3 (moyenne de 16 mesures : 8.4) et de 7.2 à 8.3 en mars 1994 (moyenne de 14 valeurs : 7.7). D'une manière générale, le pH de la rivière a tendance à augmenter de l'amont (pH 7.4 - 7.5) vers l'aval (pH 7.8 - 9.3).

La diversité spécifique tend à augmenter de l'amont vers l'aval, avec l'amélioration de la qualité de l'eau.

Le tronçon 1, d'Arlon à Freylange, a été fortement dénaturé (rectifications, curages, enrochements). Il est également le plus pollué, essentiellement par une pollution organique d'origine urbaine. Aucune végétation aquatique vasculaire n'a été observée dans ce tronçon qualifié de polytrophe par DETHIOUX (1989a). De Freylange à Chantemelle (tronçon 2), apparaît un groupement dominé par *Sparganium emersum* et *Potamogeton natans* parfois associés à, P. *crispus*. Le tronçon 3, dans la région d'Etalle, est caractérisé par l'abondance de *Potamogeton pectinatus* encore accompagné des dominantes du groupement 2 et la présence de *Polygonum amphibium*. Dans le tronçon 4, *Sparganium emersum* et *Potamogeton pectinatus* dominent le groupement. Ces deux tronçons (3 et 4) peuvent être rattachés à l'association du *Potamogetonetum pectinati* CARSTENSEN 1955 (OBERDORFER, 1992). Les tronçons 2 à 4 sont moyennement artificialisés (certains tronçons sont recalibrés mais l'enrochement y est réduit). Dans l'ensemble, les tronçons 1 à 4 ont une eau fortement minéralisée (conductivité moyenne comprise entre 746 et 432 µS/cm), très riche en éléments nutritifs (N/NH_4 : 0.97 à 0.49 mg/l ; P/PO_4 : 0.75 à 0.15 mg/l).

Au niveau du tronçon 5, la Semois reçoit un affluent ardennais à débit important (la Rulles) dont les eaux, beaucoup plus faiblement minéralisées (100 à 166 µS/cm), diluent et améliorent significativement la qualité des eaux de la Semois. Les concentrations en P/PO_4 (0.055 mg/l) et en N/NH_4 (0.115 mg/l) y sont d'ailleurs plus faibles qu'à l'amont. C'est à partir de ce niveau, et jusqu'à Monthermé, qu'apparaît la renonculaie aquatique dominée par *Ranunculus fluitans*. Les tronçons 5 à 8 appartiennent à l'association des eaux calcaires eutrophes du *Ranunculetum fluitantis* ALLORGE 1922. Le tronçon 5, caractérisé par un substrat plus limoneux et l'abondance de *Sparganium emersum,* peut être rapporté à la sous-association *R. f. sparganietosum* (OBERDORFER, 1992). C'est au niveau de la confluence de la Rulles et de la Semois que nous avons noté quelques pieds de *Ranunculus penicillatus* à proximité de *R. fluitans*. Les tronçons 6 à 8 sont caractérisés par une vitesse du courant plus importante et la fréquence plus grande de substrats rocheux. Par l'abondance des potamots (*Potamogeton perfoliatus, P. crispus*, P. *lucens*) ces tronçons peuvent être rapportés à la sous-association *R. f. potamogetonetosum* (OBERDORFER *op. cit.*). Le tronçon 7 se distingue par l'abondance de la forme immergée de *Butomus umbellatus* et l'apparition de *Potamogeton lucens*. Dans le tronçon 8 *Myriophyllum spicatum* forme un faciès particulier par sa fréquence et son abondance.

Quelques espèces, hélophytes de pied de berge essentiellement, que l'on peut qualifier de compagnes, ne figurent pas dans le tableau I, en raison de leur apparition trop sporadique dans nos relevés. Il s'agit des espèces suivantes : *Acorus calamus*, *Alisma plantago-aquatica*, *Equisetum fluviatile*, *Glyceria maxima*, *Iris pseudacorus*, *Mentha aquatica*, *Myosotis scorpioides*, *Phalaris arundinacea*, *Rumex hydrolapathum*, *Scirpus lacustris*, *Solanum dulcamara*, *Sparganium erectum* subsp. *erectum*. Ces espèces peuvent être abondantes le long de la Semois, mais appartiennent typiquement aux végétations riveraines et non aux groupements et associations aquatiques.

Le tableau II présente les principales conditions abiotiques naturelles de la Semois. Il a permis de définir 15 tronçons aux caractéristiques d'habitat potentiellement homogènes.

La végétation aquatique actuelle ne reflète que partiellement les variations naturelles de l'habitat. Ceci est dû au fait, en partie du moins, que la Semois conserve ses eaux d'origine, riches en calcaire, lorsqu'elle transite sur les substrats géologiques primaires beaucoup plus pauvres, de l'Ardenne. Ensuite, des altérations d'origine anthropique (pollutions, rectifications, curages, enrochements) sont particulièrement perturbatrices dans les tronçons 1 à 4. Ceci se traduit par l'altération de la végétation potentielle présumée : groupements du *Sparganio-Glycerion* OBERDORFER 1957 dans les tronçons 1 et 2 de faible largeur et du *Ranunculetum fluitantis sparganietosum* dans les tronçons plus larges 3 et 4. La présence antérieure de cette sous-association est étayée par des données floristiques anciennes mentionnant la présence de *Ranunculus fluitans* (VAN ROMPAEY & DELVOSALLE, 1979, carte n° 226).

Source : MNHN

Tronçons	1	2	3	4	5	6	7	8
Distance à la source	0 à 6,6	6.6 à 21.3	22.3 à 23.5	24.4 à 31.4	31.9 à 48.2	48.9- à 52.1	52.2 à 121	123.9 à 197.5
Localités présentes dans le tronçon	Arlon à Freylange	Freylange à Chantemelle	Etalle	Etalle à Villers-S Semois	Tintigny à Jamoigne	Moyen	Chiny à Dohan	Bouillon à Monthermé
Longueur du tronçon (km)	6,6	14.7	1.2	7	16.3	3.2	68.8	73.6
Nombre de relevés		15	2	6	44	8	65	78
Potamogeton natans		**IV (5-1)**	5 (2-1)		I (+)			
Sparganium emersum		**V (5-1)**	5 (1)	**V (5-2)**	**IV (4-+)**	I (+)	I (1-+)	
Potamogeton crispus		II (2-1)		I (1)	III (3-+)	III (2-1)	I (3-1)	I (3-1)
Elodea canadensis		I (1)	3 (1)	III (1-+)	II (3-+)	I (2)		
Lemna minor		I (1)		I (+)	I (2-+)	I (1-+)	I (+)	I (1-+)
Potamogeton pectinatus			**5 (5-3)**	**V (3.1)**	II (5-+)	II (4-1)		
Polygonum amphibium			3 (+)		I (1-+)		I (+)	
Ranunculus fluitans					**IV (5-+)**	**V (5-+)**	**V (5-+)**	**V (5-+)**
Potamogeton perfoliatus					II (4-+)	**IV (3-+)**	III (3-+)	I (4-1)
Sagittaria sagittifolia					II (2-+)	II (2-1)	I (3-+)	I (2-1)
Nuphar lutea					II (5-+)	I (4)		I (5-1)
Fontinalis antypiretica					II (4-+)	I (3)		
Elodea nuttallii					I (4-2)	III (2-1)	II (2-1)	I (4-+)
Butomus umbellatus					I (1-+)	I (2)	**IV (4-+1)**	II (1-+)
Spirodela polyrhiza					I (1-+)			
Potamogeton lucens							II (4-1)	I (3-1)
Myriophyllum spicatum								**IV (5-+)**
Nombre d'espèces	0	5	5	5	15	12	10	10
Conductivité (µS/cm 25°)	Paramètres physico-chimiques							
Valeurs extrêmes	530-2111	485-645	473-492	434-473	182-341	280-321	165-341	185-281
Moyennes	746	535	482.5	460	286	290	260	216
PO_4 (mg P/l)								
Valeurs extrêmes	0.2-1.10	0.09-0.42	–	0.08-0.23	0.03-0.08	–	0.01-0.06	0.01-0.05
Moyennes	0.75	0.21	–	0.15	0.055	–	0.044	0.025
NH_4 (mg N/l)								
Valeur extrêmes	0.3-1.8	0.33-1.85	–	0.32-0.66	0.07-0.16	–	0.04-0.22	0.03-0.08
Moyennes	0.80	0.97	–	0.49	0.115	–	0.088	0.042
NO_3 (mg N/l)								
Valeur extrêmes	–	2.1-5.4	–	1.8-2.22	1.42-1.81	–	0.86-3.71	0.61-2.21
Moyennes	–	3.1	–	2.02	1.64	–	1.64	1.8
pH								
Valeur extrêmes	7.4-7.5	7.4-7.6	7.7	7.7		8.1	7.2-8.8	7.8-9.3
Moyennes	7.45	7.50	7.7	7.7		8.1	8.0	8.55

Tableau I.– Végétation aquatique et paramètres physico-chimiques de la Semois (1994).
Aquatic vegetation and physico-chemical parameters of the Semois river.

*, B. = *Butomus*, E. = *Elodea*, F. = *Fontinalis*, L. = *Lemna*, M. = *Myriophyllum*, N. = *Nuphar*, P. = *Potamogeton*, Po. = *Polygonum*, R. = *Ranunculus*, S. = *Sparganium*, Sa. = *Sagittaria*, Sp. = *Spirodela*; chiffres romains (I à V), classe de présence phytosociologique; entre parenthèses, coefficients de quantité extrêmes.

Source : MNHN

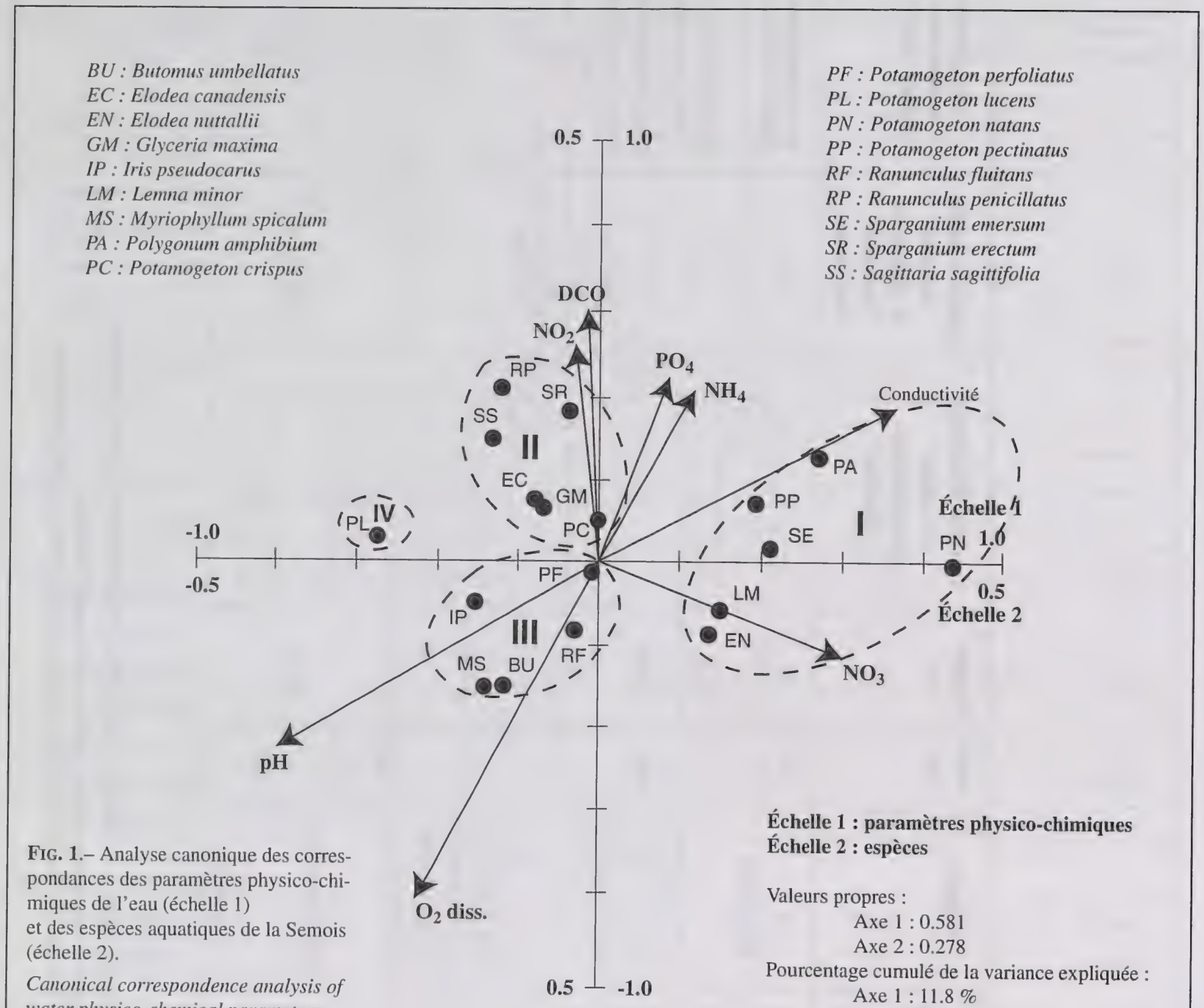
Localités	Principaux affluents	Coordonnées (km à partir de la source)	District phytosociologique	Géologie	Pente (‰)	Largeur (m)	Tronçons présentant les mêmes caractéristiques d'habitat		Coordonnées des tronçons de végétation homogène (km / source)	Groupements et associations végétales observées
Arlon		0-1	Lorraine	grès calcaire	18	1	1		0-6.6	pas de spermatophytes (algues filamenteuses)
		1-8			3.9	1-1.50	2			
		8-18.5			0.84	2-12	3		6.6-22	*Sparganium emersum & Potamogeton natans*
Etalle		18.5-31.4		argiles et marnes		10-20	4		24.4-31.4	*Sparganium emersum & Potamogeton pectinatus*
Tintigny	Rulles →	31.4-48					5		31.9-48.2	*R.f.s.*
Jamoigne	Vierre →	48-54					6		48.9-52.1	*R.f.p.*
Chiny		54-60	Ardennes	schiste et phyllade			7		52.2-121	
Florenville		60-71	Lorraine	argiles et marnes	1.27	20-40	8			
		71-78	Ardennes	schiste et phyllade			9			*R. f.p.*
		78-84	Lorraine	argiles et marnes			10			
Herbeumont		84-104	Ardennes	schiste et phyllade	1.68	20-50	11			
		104-112.5			1.22		12			
Bouillon	Alleines →	112.5-144			1.12		13			
Vresse		144-195			1.09		14		123.9-197.5	*R. f.p.*
		195-197.5		schiste et grès			15			

TABLEAU II.– Relations entre les conditions abiotiques de la rivière et les groupements végétaux aquatiques.

Relations between river abiotic conditions and aquatic vegetation.

R.f.s. = *Ranunculetum fluitantis sparganietosum*; R.f.p. = *Ranunculetum fluitantis potamogetonetosum.*

Source : MNHN



Échelle 1 : paramètres physico-chimiques
Échelle 2 : espèces

Valeurs propres :
Axe 1 : 0.581
Axe 2 : 0.278
Pourcentage cumulé de la variance expliquée :
Axe 1 : 11.8 %
Axe 2 : 17.4 %

FIG. 1.– Analyse canonique des correspondances des paramètres physico-chimiques de l'eau (échelle 1) et des espèces aquatiques de la Semois (échelle 2).

Canonical correspondence analysis of water physico-chemical parameters [scale 1] and of aquatic species of the Semois river [scale 2].

Après la confluence de la Semois et de la Rulles (à partir du tronçon 5, TAB. I), les différentes sous-associations observées du *Ranunculetum fluitantis* semblent être plus proches de la végétation aquatique potentielle, mais probablement sous des formes légèrement appauvries. En effet, des données floristiques anciennes (van ROMPAEY & DELVOSALLE, 1979) mentionnent la présence en basse Semois d'espèces actuellement disparues comme *Groenlandsia densa* (carte n° 1162, au lieudit Les Hayons, près d'Auby), *Myriophyllum alternifolium* (carte n° 673, en aval de Cugnon).

Sur la figure 1, pour des raisons de clarté, nous n'avons pas représenté les 40 stations étudiées, mais uniquement les 18 espèces observées (points noirs), ainsi que les variables environnementales (vecteurs).

Le sens des flèches indique la direction du gradient correspondant au paramètre. L'importance de l'influence de celui-ci dans la classification étudiée est mesurée par la longueur du vecteur. Les deux valeurs propres fournies sont une mesure de la capacité des axes correspondants à discriminer les espèces : une valeur supérieure à 0,5 peut être considérée comme bonne. Sur la figure 1, ces mêmes valeurs sont également présentées de façon relative, en pourcentage cumulé de la dispersion totale des données. La valeur 17,4 %, cumulée pour les deux axes retenus, peut paraître faible. Elle est néanmoins tout à fait représentative pour une analyse canonique des correspondances qui impose aux axes des restrictions supplémentaires par rapport aux méthodes de base.

Source : MNHN

Cette analyse a permis de rassembler les espèces en quatre groupes se comportant différemment par rapport aux paramètres physico-chimiques mesurés. Un premier groupe, situé dans la partie droite de l'axe des abscisses, rassemble les espèces favorisées par une conductivité élevée (*Polygonum amphibium, Potamogeton pectinatus*), celles favorisées par des teneurs en NO_3 élevées (*Lemna minor, Elodea nuttallii)* et d'autres par des valeurs élevées de ces deux paramètres (en premier lieu *Potamogeton natans,* puis *Sparganium emersum*).

Un deuxième groupe, dans le premier quart du graphique, est constitué (en commençant par l'espèce la plus éloignée du centre de gravité) de *Ranunculus penicillatus*, *Sparganium erectum, Sagittaria sagittifolia, Elodea canadensis,* et de *Glyceria maxima.* Ces espèces sont favorisées par des concentrations en NO_2, NH_4, PO_4, une DCO et une conductivité élevées. Cependant, de fortes concentrations en NO_3 ne semblent pas leur convenir. *Potamogeton crispus* est situé très près du centre : il ne montre pas de préférence nette, en effet on le trouve dans les relevés tout au long de la rivière.

Dans le troisième groupe, dans le quatrième quart du graphique, se trouvent *Potamogeton perfoliatus*, près du centre, puis *Ranunculus fluitans* et enfin, très proches, *Butomus umbellatus* et *Myriophyllum spicatum*. Ces espèces préfèrent les valeurs les plus faibles d'NH_4 et de conductivité, en parallèle avec des valeurs d'oxygène dissous et de pH plus élevées. Elles supportent un certaine concentration en NO_3. *Potamogeton lucens* semble être l'espèce préférant les plus faibles valeurs de conductivité et de NO_3. Elle occupe une position excentrée et intermédiaire entre les groupes II et III.

L'axe horizontal, le plus représentatif de la variabilité totale, est caractéristique de la position des espèces dans le parcours de la rivière (amont, fortement minéralisé, à droite sur la figure 1) tandis que l'axe vertical peut être interprété comme un axe de pollution (essentiellement organique), les espèces les plus résistantes étant situées vers la partie supérieure de la figure.

DISCUSSION

En l'absence d'un nombre suffisant de relevés phytosociologiques antérieurs aux modifications anthropiques de l'hydrosystème Semois, il est difficile, voire impossible actuellement, de déterminer l'état de référence de la végétation aquatique pour tout le cours de la rivière. En effet, seuls quelques relevés de renonculaie à renoncule flottante (*Ranunculetum fluitantis* ALLORGE, 1922) ont été publiés pour la moyenne et la basse Semois, le plus souvent sans grande précision de localisation (NOIRFALISE & DETHIOUX, 1977 ; DETHIOUX & NOIRFALISE, 1985). Le présent travail établit un premier diagnostic relativement fiable, vu le grand nombre de relevés phytosociologiques effectués, de l'état global actuel de la Semois. La succession longitudinale des groupements végétaux observés pourrait servir de référence pour des études, à plus long terme, du suivi de la qualité de la rivière.

Dans les premiers kilomètres de la rivière, à la sortie de la ville d'Arlon, les eaux sont polytrophes (DETHIOUX, 1989a) et dépourvues de toute végétation aquatique supérieure. Cette absence de végétation aquatique dans ce secteur est déjà ancienne (VANDER BORGHT *et al.,* 1982).

Le premier groupement, à *Sparganium emersum* et *Potamogeton natans*, que l'on observe actuellement en haute Semois, n'est pas sans rappeler le complexe des communautés planitiaires à *Sparganium emersum* fréquent dans les eaux à courant lent d'Europe centrale (WIEGLEB, 1981, 1983). Le reprofilage longitudinal (et transversal) de la haute Semois a modifié complètement les conditions naturelles du milieu. Au lieu d'une petite rivière serpentant librement dans la plaine, nous avons des biefs rectilignes, à berge abrupte, à courant très lent, alternant avec des seuils artificiels. Ces conditions ont pu favoriser quelques espèces opportunistes et résistantes à la pollution. C'est le cas de *Sparganium emersum*, une espèce à large amplitude vis-à-vis du niveau trophique se rencontrant dans des eaux mésotrophes, eutrophes voire polytrophes (DETHIOUX, 1979, 1989b ; KLEIN & CARBIENER, 1989). *Potamogeton natans*, surtout abondant au niveau des seuils, alors sous la var. *prolixus*, supporte ici des valeurs très élevées de N/NH_4 (0.33 à 1.85 mg/l), pour lesquelles nous n'avons pas trouvé d'équivalent dans la littérature. KOHLER (1982), dans la rivière Moosach, a observé *P. natans* var. *prolixus* dans des eaux à teneur légèrement inférieure à 0.1 mg NH_4/l, donc nettement moins chargées que les nôtres. *Potamogeton natans*, considéré par MÉRIAUX (1982) comme une espèce des biotopes mésotrophes, présente donc en haute Semois une amplitude écologique bien plus large.

L'association à *Potamogeton pectinatus*, signalée dans la région loessique de moyenne Belgique, (DETHIOUX & NOIRFALISE, 1985, TAB. III) est mentionnée pour la première fois en haute Semois (district lorrain). Dans la zonation longitudinale actuelle de la rivière, elle suit le groupement à *Sparganium emersum* et *Potamogeton natans.* Les auteurs s'accordent pour faire de *Potamogeton pectinatus* une espèce indicatrice des eaux anormalement riches (eaux polytrophes signalant une eutrophication de la rivière) (e.g. WIEGLEB, 1981 ; CARBIENER *et al.*, 1990 ; HAURY & PELTRE, 1993 ; GRASMÜCK *et al.,* 1995). Il est clair que dans les trente premiers kilomètres du cours de la Semois, la richesse excessive des eaux combinées aux atteintes physiques du lit de la rivière ont modifié radicalement la composition des groupements végétaux qui s'y trouvaient auparavant. Un groupement du Glycerio-Sparganion (en particulier la glycéraie à *Glyceria plicata*

Source : MNHN

des eaux eutrophes, riches en calcium) devait occuper la rivière en tête de bassin, avant les perturbations du milieu. Cette association est encore présente en Lorraine belge, dans des cours d'eau mineurs à substrat alluvial meuble du bassin de la Semois (DETHIOUX, 1980).

WIEGLEB (1981), dans les montagnes de la Basse Saxe méridionale, a mentionné une succession longitudinale des groupements végétaux aquatiques pour des rivières larges, aux eaux naturellement eutrophes (donc analogues à la Semois). Cette succession, en fonction d'un gradient croissant d'eutrophisation est la suivante : association à *Ranunculus fluitans* riche en *Potamogeton perfoliatus* —> association à *Ranunculus fluitans* —> Association à *Ranunculus fluitans* riche en *Potamogeton pectinatus*. Ces associations sont précisément celles observées en moyenne et basse Semois (tronçons 5 à 8 du TAB. I), sauf qu'elles y occupent un ordre inversé, ce qui pourrait s'expliquer par le gradient d'eutrophisation qui décroît de l'amont vers l'aval plutôt que le contraire ! L'apparition de *Potamogeton lucens* dans les tronçons 7 et 8, à conductivité moyenne (260 et 216 µs/cm) et aux teneurs moyennes en P/PO_4 (0.044 et 0.025 mg/l) et en N/NH_4 (0.088 et 0.042 mg/l) les plus faibles, est conforme aux observations de WIEGLEB (1981), pour qui cette espèce se développe exclusivement dans des eaux peu chargées. *Potamogeton perfoliatus*, qui aurait les mêmes exigences trophiques que *P. lucens* (WIEGLEB, *op. cit.*), apparaît déjà dans le tronçon 5 (conductivité, 460 µs/cm) et sa présence est maximale dans le tronçon 6 (290 µS/cm). Les causes de l'absence actuelle de certaines espèces, encore signalées en basse Semois voici quelques décennies [comme *Groenlandsia densa*, espèce mésotrophe, et *Myriophyllum alternifolium*, espèce oligotrophe selon MÉRIAUX (1982)], sont conjecturales : concurrence d'espèces à biomasse importante, comme *Ranunculus fluitans*, dont le développement serait favorisé par des eaux encore trop riches en nutriments (notamment P/PO_4) ; impossibilité de réinstallation par manque de diaspores dans le voisinage (mais des apports lointains par des oiseaux migrateurs sont envisageables) ; handicap à la réinstallation dû aux perturbations physiques répétées du lit de la rivière par les embarcations (et aussi, en partie du moins, par les pêcheurs en eau vive). On notera que les valeurs moyennes actuelles de conductivité en basse Semois sont supérieures à la valeur maximale de 200 µS/cm admise par MÉRIAUX (1982) pour une eau mésotrophe, mais que certaines mesures se situent en dessous de ce seuil : on pourrait donc qualifier les tronçons 7 et 8 de méso-eutrophes, même si les espèces mésotrophes font actuellement défaut.

En conclusion, on peut dire que la Semois est une rivière très particulière à gradient trophique inversé par rapport aux rivières, beaucoup plus nombreuses, qui présentent une eutrophisation croissante de la source vers l'aval. Les groupements végétaux aquatiques actuels reflètent encore partiellement ces particularités naturelles, en partie obérées par les modifications anthropiques de ces dernières décennies.

BIBLIOGRAPHIE

BLANDIN, P., 1986.– Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.* 17 : 215-307.

CARBIENER, R. & ORTSCHEIT, A., 1987.– Wasserpflanzengesellshaften als Hilfe zur Qualitätsüberwachung eines des grössten Grundwasser - vorkommens europas (Oberrheinebene). In : MIYAWAKI, A. (eds.) *Vegetation Ecology and Creation of New Environments*, Proceed. Intern. Symp. Tokyo : 283-312.

CARBIENER, R., TREMOLIÈRES, M., MERCIER, J.-L. & ORTSCHEIT, A., 1990.– Aquatic macrophyte communities as bioindicators of eutrophication in calcareous oligosaprobe stream waters (Upper Rhine plain, Alsace). *Vegetatio,* 86 : 71-88.

DEBBAUT, V., LECLERC, L., ROSILLON, F. & VANDER BORGHT, P., 1992.– *Inventaire des sources de pollution de la haute Semois*. Ministère de la Région wallonne : 33p.

DETHIOUX, M., 1979.– Sur la forme flottante du rubanier, *Sparganium emersum* Rehm. dans quelques rivières belges. *Dumortiera,* 13 : 6-9.

DETHIOUX M., 1980.– Les glycéraies ripicoles de Belgique. *Natura Mosana,* 33 : 128-136.

DETHIOUX M., 1982.– Données sur l'écologie de *Ranunculus penicillatus* (Dum.) Bab. et, R. *fluitans* Lam. en Belgique. *In* SYMOEN, J.J., HOOPER, S.S., COMPERE, P. (Eds.). *Studies on Aquatic Vascular Plants*, Royal Botanical Society of Belgium, Brussels, 187-191.

DETHIOUX, M., 1989a.– Note sur la végétation de la Semois. *Tribune de l'eau,* 42 : 12-14.

DETHIOUX, M., 1989b.– *Espèces aquatiques des eaux courantes. Ministère de la Région Wallonne. Inspection générale de l'Eau*, Namur : 72 p.

DETHIOUX, M. & NOIRFALISE, A., 1985.– Les groupements rhéophiles à renoncules aquatiques en moyenne et haute Belgique. *Tuexenia* 5 : 31-39.

GRASMUCK, N., HAURY, J., LEGLIZE, L. & MULLER, S., 1995.– Assessment of the bio-indicator capacity of aquatic macrophytes using multivariate analysis. *Hydrobiologia* 300/301 : 115-122.

HASLAM, S.M., 1988.– The macrophytic vegetation of the major rivers of Luxembourg. *Bull. Soc. Nat. luxemb.*, 88 : 3-54.

HAURY, J., 1993.– *Les associations macrophytiques vasculaires en tant que descripteurs des caractéristiques d'habitat des cours d'eau à saumons : exemple du Scorff.* Colloques phytosociologiques 22, Syntaxonomie typologique des habitats, Bailleul, 31-54.

HAURY, J., 1994.– Les macrophytes, estimateurs de la qualité des cours d'eau. *In Les Variables biologiques : des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes aquatiques.* Séminaire National. Paris 2 et 3 novembre 1994 : 153-170.

HAURY, J. & PELTRE, M.-C. 1993.– Intérêts et limites des "indices macrophytes" pour qualifier la mésologie et la physico-chimie des cours d'eau : exemples armoricains, picards et lorrains. *Annls. Limnol.*, 29 : 239-253.

HILL, O., 1979.– *TWINSPAN, a Fortran program for arranging multivariate data in an ordered two-way table by classification of the individuals and attributes*. Ecology and Systematics, Cornell University, Ithaca, New York, 48p.

ISERENTANT, R. & DE SLOOVER, J.-R., 1976.– Le concept de bioindicateur. *Mém. Soc. Roy. Bot. Belg.*, 7 : 15-24.

Source : MNHN

KLEIN, J.-P. & CARBIENER, R., 1989.– Intérêt et application de la cartographie écologique à l'étude d'écosystèmes dulcaquicoles : l'exemple de deux rivières phréatiques du champ d'inondation de l'Ill. *Bull. Assoc. Philom. Als.-Lorr.*, 25 : 33-61.

KOHLER, A., 1971.– Zur Okologie submerser Gefäss-Makrophyten in Fliesswässern. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 84 : 713-720.

KOHLER, A., 1982.– Wasserpflanzen als Belastungsindikatoren. *Decheniana*-Beihefte, 26 : 31-42.

KOHLER, A., ZELLER, M. & ZELTNER, G.-H., 1987.– Veränderungen von Flora und Vegetation im Fliessgewässersystem des Moosach (Münchener Ebene) 1970-1985. *Bayer. Bot. Ges.*, 58 : 115-137.

LAMBINON, J., DE LANGHE, J.E., DELVOSALLE, L. & DUVIGNEAUD, J., 1992.– *Nouvelle Flore de la Belgique, du Grand - Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des Régions voisines (Ptéridophytes et Spermatophytes).* Quatrième édition - Editions du Patrimoine du Jardin botanique national de Belgique, B-1860 Meise : CXX + 1 092 pp.

LEGLIZE, L., PELTRE, M.C. (eds.), 1991.– *Etude des végétaux fixés en relation avec la qualité du milieu.* N° H.S. des études interagences, Ministère de l'environnement.

MERIAUX, J.-L., 1982.– L'utilisation des macrophytes des phytocénoses aquatiques comme indicateurs de la qualité des eaux. *Naturalistes belges*, 63 : 18 - 24.

NEWBOLD, C. & HOLMES, B., 1987.– Nature Conservation : Water Quality Criteria and Plants as Water Quality Monitors. *Water pollution Control*, 2 : 345-363.

NOIRFALISE, A. & DETHIOUX, M. 1977.– Synopsis des végétations aquatiques d'eau douce en Belgique. *Communication du Centre d'écologie forestière et rurale (I.R.S.I.A.) N.S.*, 14 : 25p.

OBERDORFER, E., 1992.– *Suddeutsche Pflanzengesellschaften Teil I : Fels- und Mauer-gesellschaften, alpine Fluren, Wasser-, Verlandungs- und Moorgesellschaften.* 3e édition. Ed. Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, New York : 314 p.

TER BRAAK, C.J.F., 1987-1992.– *CANOCO, a FORTRAN programm for Canonical Community Ordination.* Microcomputer Power, Ithaca, New York, USA : 95p.

THOEN, D. 1995.– Observations floristiques inédites de plantes rares ou intéressantes du bassin hydrographique de la Semois (période 1992-1994). *Dumortiera*, 61-62 : 49-74.

VANDEN BERGHEN, C., 1982.– *Initiation à l'étude de la végétation.* 3e édition. Editions du Jardin Botanique National de Belgique, B-1860 Meise : 263 p.

VANDER BORGHT, P., 1980.– *Etude physico-chimique de la Semois en vue d'une gestion qualitative.* Thèse de doctorat. Fondation Universitaire Luxembourgeoise Arlon : 264p.

VANDER BORGHT, P., SKA, B., SCHMITZ, A. & WOLLAST, R., 1982.– Eutrophisation de la rivière Semois : le développement de *Ranunculus* et ses conséquences sur l'écosystème aquatique. *In* SYMOEN, J.J., HOOPER, S.S., COMPERE, P. (Eds.) *Studies on Aquatic Vascular Plants*, Royal Botanical Society of Belgium, Brussels : 340-345.

VAN ROMPAEY, E. & DELVOSALLE, L., 1979.– *Atlas de la flore belge et luxembourgeoise - Ptéridophytes et Spermatophytes.* Jardin Botanique National de Belgique, Meise : 1542 cartes.

WASSON, J.G., 1994.– Ecorégions et systèmes de référence. *In Les Variables biologiques : des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes aquatiques.* Séminaire National. Paris 2 et 3 novembre 1994 : 37-47.

WIEGLEB, G. 1981.– Struktur, Verbreitung und Bewertung von Makrophytengesellschaften niedersächsischer Fliesswässer. *Limnologica* (Berlin) 13 : 427-448.

WIEGLEB, G. 1983.– A phytosociological study of the macrophytic vegetation of running waters in Western lower Saxony (Federal Republic of Germany). *Aquatic Bot.*, 17 : 251-274.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

The valley of the river Semois, long of ca. 200 km, crosses two contrasted zones: upstream, the jurassic calcareous rocks of the Lorrain region, with rich soils used for agriculture and breeding and downstream, the primary rocks of the Ardenne region, with poorer soils, bearing native forests and spruce plantations. From the river source, the water is hard, exhibiting CaCo3 concentrations of 130 - 165 mg $CaCO_3$/l. This hardness decreases downstream to 51 - 110 mg $CaCO_3$/l due to the mixing with poorer waters (6 - 50 mg $CaCO_3$/l) arising from the primary bedrock of the Ardenne. The water catchment of the river covers 1300 km^2. From upstream to downstream, the main sources of organic pollution are: the town of Arlon (ca. 25000 habitants) surrounding the source zone, agricultural and breeding activities (diffuse pollution), and numerous (70) camping sites. The first 30 km portion of the river was strongly denatured by human activities, such as modifications of the river bed and banks, or rectification of water course. It is also the most polluted section of the river (0,08 to 1,10 mg/l of P /PO_4; 0,3 to 1,85 mg/l of N/NH_4). A phytosociological study of the river's aquatic vascular vegetation, performed according to the BRAUN-BLANQUET method, has shown the presence of several successive vegetation types. This study led to the identification of eight sections along the river:

Section 1 (km 0 to 6,6 from source) is polytrophic and devoided of any aquatic vascular vegetation. The conductivity level (530 to 2111 µS/cm) and the amounts of N/NH_4 (0,3 to 1,8 mg/l) and P/PO_4 (0,2 to 1,1 mg/l) are very high.

Section 2 (km 6,6 to 21,3) is characterized by the presence of both *Sparganium emersum* and *Potamogeton natans*, sometimes associated with *P. crispus*. The water is still rich in nutrients, with 485 to 645 µS/cm conductivity, and polluted (N/NH_4: 0,33 to 1,85 mg/l; P/PO_4: 0,09 to 0,42 mg/l).

Section 3 (km 22,3 to 23,5) is a transition zone between sections 2 and 4. It is characterized by the dominance of *Potamogeton pectinatus*, accompanied by species present in sections 2 and 4.

Section 4 (km 24,4 to 31,4) is dominated by *Potamogeton pectinatus* and *Sparganium erectum*. Here, the conductivity value fluctuates between 434 and 473 µS/cm. The extreme levels of N/NH_4 are between 0,32 and 0,66 mg/l and those of P/PO_4 between 0,08 and 0,23 mg/l. Sections 3 and 4 May be assigned to the *Potamogeton pectinati* Cartensen 1955 association.

Section 5 (km 31,9 to 48,2): the water quality improves as clear and nutrient-poor water from the Ardenne dilutes the river. Higher water quality is maintained, or even improved, in the following sections 6, 7 and 8. Mean conductivity level drops from 286 µS/cm in section 5 to 216 µS/cm in section 8; mean N/NH_4 drops from 0,115 ti 0,042 mg/l and P/PO_4 from 0,055, to 0,025 mg/l. *Rannuculus fluitans* appears in the river with many other new species. The *Ranunculetum fluitansis* ALLORGE 1922 is an association of calcareous, eutrophic and rather large streams. It appears in section 5 and continues until the confluence of the Semois with the major River Meuse at Monthermé (France). In section 5, the abundance of *Sparganium emersum* is characteristic of the *Ranunculetum fluitantis spargantetosum*, a subassociation characteristic of silty substrates and relatively slow water flow.

Sections 6 (km 48,9 to 52,1), 7 (km 52,2 to 121) and 8 (km 123,9 to 197,5) have faster water flows and more rocky substrates. They are characterized by the presence of several pondweeds (*Potamogeton perfoliatus, P. crispus, P. lucens*) and belong to the subassociation *Ranunculetum fluitantis potamogetonetosum.*

Typical of section 7 is the abundance of the submersed form of *Butomus umbellatus* and the appearance of *Potamogeton lucens.*

In section 8, *Myriophyllum spicatum* is frequent and abundant; it forms a particular facies of *ranunculetum fluitantis.*

Source : MNHN

The species diversity increases from the higher part of the river, disturbed by organic pollution and human activities, to the lower part, with well restored water quality and a more natural environment.

A canonical correspondence analysis (CCA) was performed on 40 sites on the main aquatic plants (18 species) and the physico-chemical parameters of water (pH, dissolved oxygen, chemical demand for oxygen [DCO], conductivity, NO_2, NO_3, NH_4 and PO_4 levels), leading to a clustering of the species in four groups. The first group included species prefering high conductivity levels and/or high values of NO_3 (*Polygonum amphibium, Potamogeton pectinatus, Lemna minor, Elodea nuttallii, Potamogeton natans, Sparganium emersum*). A second group corresponded to high amounts of NO_2, NH_4, PO_4 and high levels of DCO and conductivity (*Ranunculus penicillatus, Sparganium erectum, Saggitaria sagittifolia, Elodea canadensis, Glyceria maxima, Potamogeton crispus*), a third group to the lowest NH_4 and conducivity levels and the highest O_2 and pH levels (*Potamogeton perfoliatus, Ranunculus fluitans, Butomus umbellatus, Myriophyllum spicatum*) and the fourth group, which included only one species, *Potamogeton lucens*, to the lowest conductivity and NO_3 values.

The Semois river illustrates a particular case, as the trophic and the pollution levels decrease downstream. The reverse situation generally prevails in most streams today. This makes the comparison between the aquatic vegetation of the Semois and that of other rivers difficult. The observed aquatic associations are certainly impoverished in species because of the anthropic modifications of the last decades. This view is supported by earlier data of aquatic plant species now absent from the river.

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 233-244

DES INDICES MACROPHYTIQUES POUR ESTIMER LA QUALITÉ DES COURS D'EAU FRANÇAIS : PREMIÈRES PROPOSITIONS*

Jacques HAURY[1], Marie-Christine PELTRE[2], Serge MULLER[2], Michèle TRÉMOLIÈRES[3], Jacques BARBE[4], Alain DUTARTRE[5] & Micheline GUERLESQUIN[6]

[1]*ENSA DEERN Écologie & Sciences Phytosanitaires et INRA Écologie Aquatique, 65 rue de Saint-Brieuc - 35042 Rennes Cedex, France.*

[2]*Laboratoire de Phytoécologie, Centre de Recherches Écologiques de l'Université de Metz, Île du Saulcy, 57045 Metz Cedex 01, France.*

[3]*Université de Strasbourg, Labo. de Botanique et d'Écologie Végétale, Institut de Botanique, 28, rue Goethe, 67083 Strasbourg Cedex, France.*

[4]*CEMAGREF Lyon, Division Biologie des Organismes Aquatiques, CP. 220, 3 bis, quai Chauveau, 69336 Lyon Cedex 09, France.*

[5]*CEMAGREF Bordeaux, Division Qualité des Eaux, BP3, Gazinet, 33610 Cestas Principal, France.*

[6]*Université Catholique de l'Ouest - I.R.F.A., Laboratoire de Biologie Végétale et Phytogéographie, 3, place André Leroy, BP 808, 49008 Angers Cedex 01, France.*

SUMMARY
(original scientific paper)

MACROPHYTE INDICES FOR THE ASSESSMENT OF STREAM WATER QUALITY IN FRANCE : PRELIMINARY PROPOSALS.
In order to assess water quality using macrophytes, a check list of more than 240 taxa is presented with specific scores from 0 to 10 (poor to high water quality). This original paper presents six different macrophytic indices applied to various situations, showing that the most accurate diagnosis is obtained with stenoecious species. Weighting by macrophyte species cover increases accuracy of the diagnosis and all results are consistent with water analyses. Floristic comparisons with potential vegetation are suggested to further the diagnosis.

KEY WORDS : Methodology - Macrophytic indices - Stream water quality.

RÉSUMÉ
(travail original)

En vue d'évaluer la qualité de l'eau (trophie) à l'aide de macrophytes, une liste de plus de 240 taxons est élaborée, auxquels sont attribuées des cotes allant de 0 (mauvaise qualité d'eau) à 10 (bonne qualité). Ce travail original propose une gamme de six indices macrophytiques, pour des situations variées, montrant le diagnostic le plus contrasté à partir des seules espèces aquatiques sténoèces. La pondération par les recouvrements précise le diagnostic et les résultats des indices sont cohérents avec ceux de la chimie de l'eau.

MOTS CLÉS : Méthodologie - Indices macrophytiques - Qualité des eaux courantes.

INTRODUCTION

Évaluer la qualité de l'eau à l'aide des organismes qui s'y trouvent est une démarche appliquée depuis de très nombreuses années (BLANDIN, 1986). En ce qui concerne les macrophytes (végétaux visibles à l'œil nu), les approches typologiques générales de BUTCHER (1933) et de HOLMES (1983), phytosociologiques de MÉRIAUX (1978), CARBIENER *et al.* (1990), OBERDORFER (1990), MULLER (1990a) et HAURY (1994a) ont mis en relation la qualité des eaux avec les groupements aquatiques. Deux conceptions d'indices fondés sur la liste floristique des macrophytes présents dans une station coexistent : le calcul d'une valeur moyenne d'indices spécifiques (HARDING, 1978 in *Standing Committee of Analysts* (H.M.S.O.) 1987, HARDING 1981, NEWBOLD & HOLMES 1987), et l'examen de l'écart à la référence (HASLAM 1982). Ces méthodes ont fait l'objet d'une analyse critique (HAURY & PELTRE, 1993) qui montrait l'intérêt de la démarche, mais le peu de pertinence de quelques valeurs de cotes spécifiques et la

* Manuscrit reçu le 3 mai 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 4 novembre 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

faiblesse taxonomique de certaines méthodes. Il était alors proposé d'affiner les cotes spécifiques et de les adapter au contexte national, comme cela a été rappelé par HAURY (1994b). C'est cette démarche qui fait l'objet des présentes propositions du Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) "Macrophytes des Eaux continentales". L'objectif est alors de proposer un outil opérationnel d'estimation de la qualité de l'eau, dans différents contextes de climat, de minéralisation et de pH, de trophie (concentration en éléments minéraux nutritifs), et de milieu physique, selon une hiérarchie présentée par TRÉMOLIÈRES (1994).

MÉTHODES D'ÉTUDE

Les végétaux sont inventoriés entre mai et octobre sur des tronçons d'une longueur minimale de 50 m, si possible homogènes du point de vue des conditions d'écoulement et d'éclairement (HAURY, 1985), dans le lit en eau. Des relevés complémentaires et distincts sont éventuellement effectués sur les zones supra-aquatiques (immergées pendant au moins 40 % de l'année selon HOLMES & WHITTON, 1977, cette limite arbitraire étant adaptée selon la morphologie de la berge) qui sont colonisées par des espèces considérées par HOLMES (1983), HARDING (1981) et NEWBOLD & HOLMES (1987) comme indicatrices de la qualité des eaux. Les macrophytes sont identifiés au genre pour les algues, à l'espèce pour la plupart des autres macrophytes. La nomenclature adoptée est celle de BOURRELLY (1968, 1970, 1990) pour les algues, de AUGIER (1966) pour les bryophytes, et de TUTIN *et al.* (1964 à 1980) pour les végétaux vasculaires. Des coefficients de recouvrement sont attribués aux macrophytes suivant l'échelle d'abondance-dominance des phytosociologues (BRAUN-BLANQUET, 1964 ; GUINOCHET, 1973) qui comprend six niveaux (+ : quelques individus et recouvrement très faible ; (1) : assez nombreux individus et recouvrement (r) < 5 % ; (2) : très nombreux individus et 5 % ≤ r < 25 % ; (3) : 25 % ≤ r < 50 % ; (4) : 50 % ≤ r < 75 % ; (5) : 75 % ≤ r).

Les données physico-chimiques ont été pour la plupart acquises sur plusieurs périodes, soit par des analyses normalisées, soit par des analyses réalisées en spectro-colorimétrie après vérification des mesures grâce à des gammes étalons. Par ailleurs, les contextes lithologiques et morphodynamiques des stations d'étude sont précisés.

En raison de l'absence de liste complète des macrophytes des cours d'eau français, la première étape a consisté à établir cette liste (annexe I) à partir des relevés préexistants des auteurs, des flores régionales et des rares publications sur la végétation des cours d'eau français. Les espèces très rares (selon l'expérience des auteurs, et après vérification dans diverses flores - TUTIN *et al.*, 1964 à 1980 ; AUGIER, 1966 ; DES ABBAYES *et al.*, 1971, FOURNIER, 1977 ; DE LANGHE *et al.*, 1983, ou des catalogues régionaux comme ceux de GAUME, 1955-1956 ou de MULLER, 1990b), ont été éliminées, de même que la plupart des hybrides et des espèces montagnardes, les espèces méditerranéennes ou strictement halophiles. Toutes les espèces qui ne sont pas déterminables *in situ*, comme certaines bryophytes (espèces aquatiques des genres *Fissidens*, *Chiloscyphus* ou *Sphagnum*), ne sont également considérées qu'au genre, de façon à proposer une méthode opérationnelle essentiellement fondée sur des relevés de terrain.

Le choix de retenir une gamme de cotes spécifiques allant de 0 (qualité d'eau très dégradée et pollution organique forte, marquée par des colonies de bactéries et champignons hétérotrophes) à 10 (bonne qualité d'eau, pas de pollution décelable) correspond à un souci de simplicité de la méthode. Ces cotes ont été établies en croisant les cotes de HARDING et de NEWBOLD & HOLMES, avec les typologies préexistantes et des données bibliographiques très diverses. Celles-ci, souvent plus indicatives que chiffrées, et rarement présentées sous forme de profils écologiques hormis certains travaux assez récents (HOLMES & NEWBOLD, 1984 ; HASLAM, 1987 ; GRASMÜCK, 1994), ont été confrontées aux observations des auteurs. Il s'agit d'ordonner les espèces les unes par rapport aux autres. Les gammes de valeur des "Cotes Spécifiques" (CSi) correspondent au moins pour l'est de la France (GRASMÜCK, 1994 ; TRÉMOLIÈRES *et al.*, 1994) aux seuils suivants de concentration moyenne en azote ammoniacal et en phosphore sous forme d'orthophosphates : CSi > 7 : concentrations inférieures à 50 µg/l ; 7 > CSi > 5 : concentrations comprises entre 50 et 100 µg/l ; CSi < 5 : concentrations supérieures à 100-150 µg/l. Toutefois, ces seuils diffèrent selon les régions et le contexte trophique général. Par ailleurs, des pollutions minérales ou organiques modifiant la conductivité, les teneurs en nitrates, en chlorures, en sulfates, en fer, en divers métaux lourds sont également manifestées par certains macrophytes (WHITTON, 1979 ; EMPAIN *et al.*, 1980 ; MÉRIAUX & WATTEZ, 1980 ; HAURY, 1990 ; GRASMÜCK, 1994). Ces valeurs d'azote ammoniacal et de phosphore orthophosphorique ne sont donc présentées qu'à titre indicatif. Par ailleurs, les macrophytes, présents sur une longue période, sont des intégrateurs des variations de la qualité de l'eau (WHITTON, 1979). Les espèces euryèces ont été distinguées pour une prise en compte différenciée dans les calculs d'indices, comme le préconisent NEWBOLD & HOLMES (1987).

Les formules pour les calculs d'indices GIS prenant en compte le seul lit en eau (AQ), seulement les espèces sténoèces de ce lit (AQSt) ou l'ensemble des zones aquatiques et supra-aquatique (A + S) sont les suivantes :

- en présence-absence (PA) :

$$\text{GIS (AQ, AQSt, A + S) PA} = 1/n \sum_i CS_i$$

Source : MNHN

• en pondération par les recouvrements estimés par les coefficients d'abondance-dominance (AD) :

$$GIS\ (AQ, A + S)\ AD = (\sum_i AD_i * CS_i)/\sum_i AD_i$$

avec les notations suivantes : n = nombre d'espèces ayant un indice ; i = 1 à n ; CS_i = cote spécifique (de 0 à 10) ; AD_i = coefficient d'abondance-dominance de l'espèce i (avec la convention + = 0,5).

MILIEUX D'ÉTUDE

Quatre-vingt dix stations réparties sur 10 rivières ont été étudiées. Ces rivières ont été choisies dans la moitié Nord de la France pour la diversité de leur lithologie, de leur niveau trophique et des pollutions qui les affectent. Le Scorff et son affluent, le Saint-Sauveur sont des cours d'eau bretons de pénéplaine, situés sur granites et schistes (HAURY, 1985). Le Tilleul est situé en Basse-Normandie et Pays de la Loire, il coule sur schistes puis gneiss (HAURY & PELTRE, 1993). L'Avre et son affluent la Noye sont des rivières qui entaillent les plateaux calcaires picards de la Somme (HAURY & PELTRE, 1993). La Petite Seille est une rivière lorraine de plaine coulant sur marnes et la Moselotte est une rivière des Vosges granitiques (GRASMÜCK, 1994). Le Schwarzbach et ses petits affluents amont sont des cours d'eau montagnards localisés sur les grès des Vosges du Nord (MULLER, 1990a, THIÉBAUT & MULLER 1995). La Lachter et le Trulygraben sont des cours d'eau phréatiques du Ried alsacien (TRÉMOLIÈRES *et al.*, 1994). La largeur des stations étudiées varie entre 1 m et 20 m, leur ordre de drainage étant compris entre 1 et 5. Leurs caractéristiques principales sont résumées dans le tableau I, ordonné selon la richesse trophique des substrats lithologiques. Les variations de deux paramètres chimiques de la qualité des eaux et les diverses causes des pollutions sont illustrées par la figure 1.

RÉSULTATS

RÉSULTATS GÉNÉRAUX

La liste des taxons pour lesquels ont été établis des cotes comprend le groupe des organismes hétérotrophes coloniaux (bactéries et champignons présentant des filaments visibles à l'œil nu), 18 genres d'algues, 48 espèces ou genres de bryophytes, 4 espèces de ptéridophytes et 172 de spermatophytes.

Les altérations de la qualité de l'eau déterminent la disparition d'espèces polluo-sensibles comme *Potamogeton polygonifolius* ou *P. coloratus*, et l'apparition d'espèces indicatrices de pollution organique comme *Callitriche obtusangula, Potamogeton pectinatus* ou *Amblystegium riparium*. L'analyse espèce par espèce est insuffisante car les probabilités de colonisation dépendent notamment des caractéristiques du milieu physique, et le diagnostic pluri-spécifique est plus fiable et complet (ISÉRENTANT & DE SLOOVER, 1976). Par ailleurs, la présentation des informations sous forme d'un indice est un moyen de synthétiser les résultats et de les communiquer aux non-spécialistes, mais aussi de comparer des systèmes très différents entre eux du point de vue floristique.

TABLEAU I.– Caractéristiques des rivières étudiées.

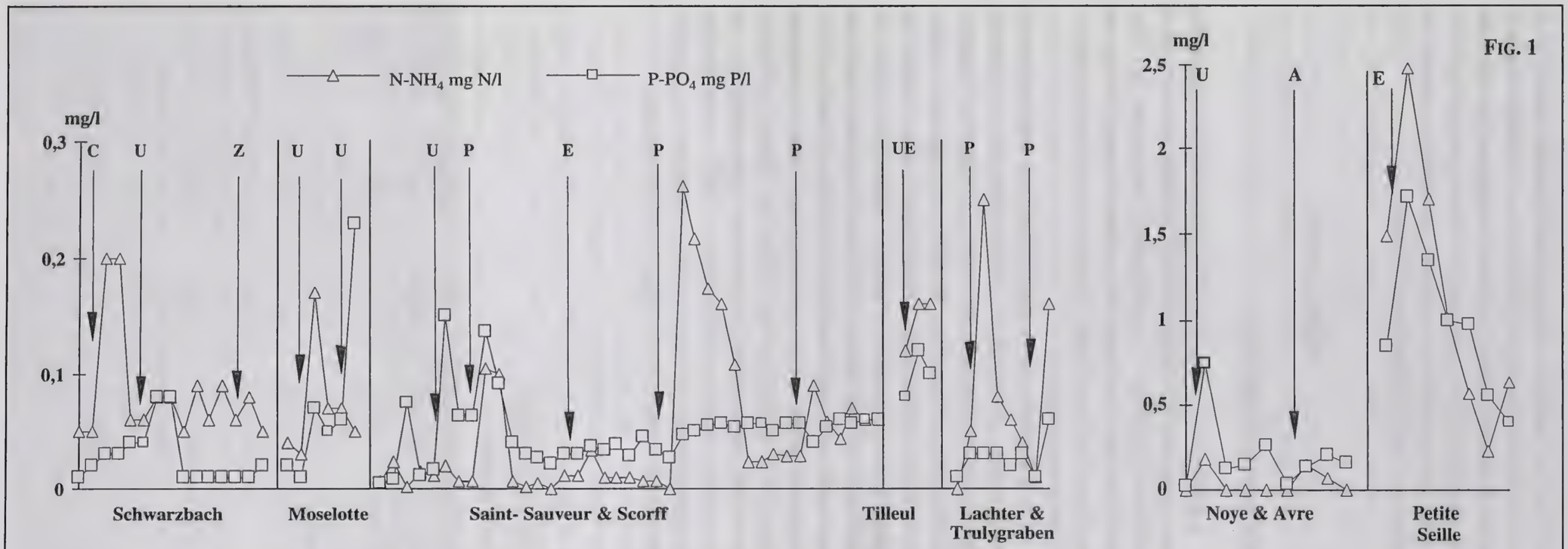
Characteristics of the studied streams.

RIVIERES	NOMBRE DE STATIONS	LITHOLOGIE	PRINCIPALES SOURCES DE POLLUTION	CONDUCTIVITÉ (µS/cm)*	$N\text{-}NO_3$ (mg/l)*	$N\text{-}NH_4$ (mg/l)*	$P\text{-}PO_4$ (mg/l)*
Schwarzbach + affl.	**15**	Grès vosgien	Camping, lagune, élevage bovin	43-71	0,2-1	0,05-0,2	0,01-0,08
Moselotte	**6**	Granites	Rejets urbains	31-63	0,1-0,5	0,03-0,17	0,01-0,23
Saint-Sauveur	**10**	Granites/schistes	Piscicultures, rejets urbains	165-238	5,9-8,8	< 0,01-0,11	0,01-0,15
Scorff	**26**	Granites/schistes	Piscicultures	107-187	2,9-7,3	< 0,01-0,26	0,02-0,06
Tilleul	**5**	Schistes/gneiss	Rejets urbains, étangs	180-190	4,1-5,7	0,12-0,16	0,08-0,12
Lachter	**7**	Calcaire	Pisciculture, rejets urbains	668-718	3,2-4,2	< 0,01-0,25	0,01-0,03
Trulygraben	**2**	Calcaire	Pisciculture	705-711	3,9-5,4	0,01-0,16	0,01-0,06
Noye	**5**	Calcaire	Rejets urbains	515-560	5,5-6,6	< 0,01-0,18	0,02-0,75
Avre	**8**	Calcaire	Industries, papeterie	570-640	1,4-4,1	< 0,01-0,15	0,03-0,26
Petite Seille	**6**	Marnes	Étangs, rejets urbains	1700-2300	1,9-3,8	0,23-2,48	0,39-1,72

* valeurs extrêmes observées

Source : MNHN

FIG. 1



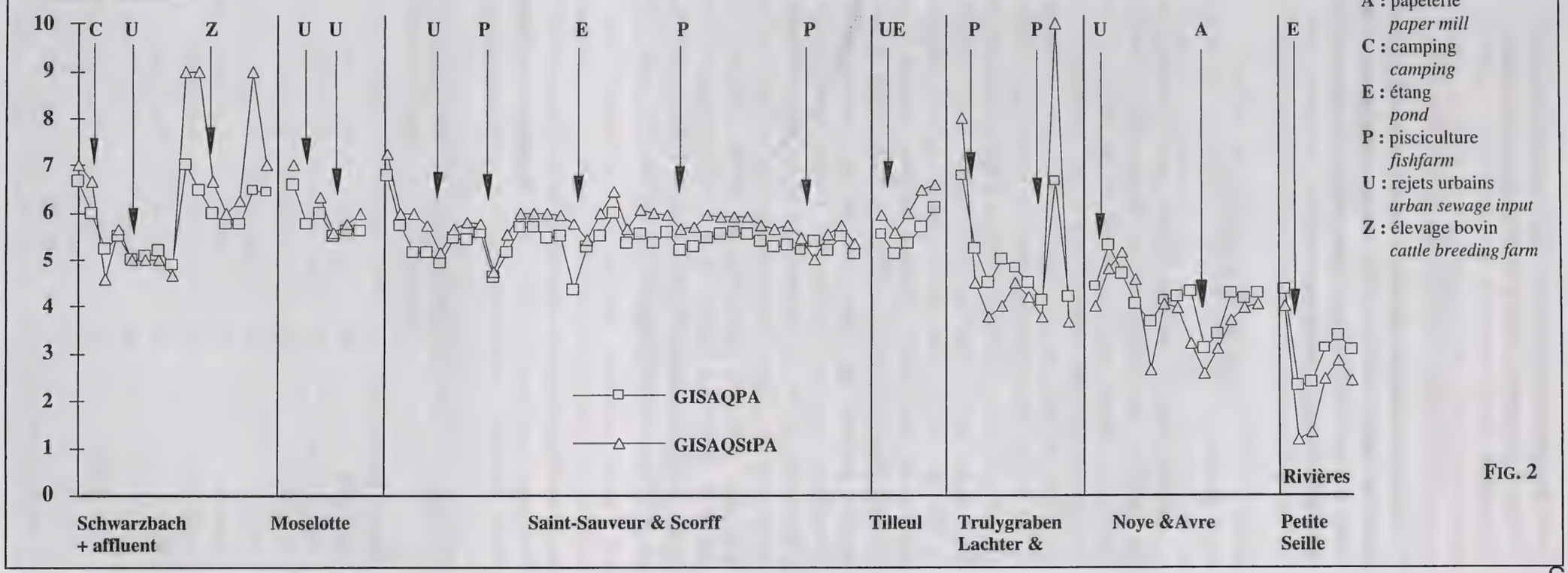


FIG. 2

Source : MNHN

Les deux premiers calculs d'indices concernent la liste floristique de l'ensemble des espèces aquatiques (GISAQPA) et des seuls taxons sténoèces (GISAQStPA) présents dans le lit en eau (FIG. 2). Les variations de ces indices concordent assez bien avec celles des paramètres physico-chimiques considérés. Ainsi, sur le Schwarzbach, entre l'amont et l'aval des rejets d'un camping, les valeurs de ces deux indices passent respectivement de 6,0 à 5,2 et de 6,7 à 4,6. Sur la Lachter, en aval des rejets d'une pisciculture, ils passent respectivement de 6,8 à 5,3 et de 8,0 à 4,5. Sur le Scorff, les différences sont peu sensibles entre l'amont et l'aval des rejets de la pisciculture de Pontcallec (respectivement 5,6 à 5,2 et 5,9 à 5,6). En revanche, la papeterie de l'Avre entraîne des modifications importantes (4,2 à 3,7 et 4,0 à 2,9). Pour la Petite Seille, la présence des étangs détermine des chutes d'indices, respectivement de 4,4 à 2,3 et de 4,0 à 1,2. Les variations d'indices sont donc beaucoup plus importantes si l'on considère les seuls macrophytes sténoèces. Toutefois, le diagnostic devient alors parfois impossible faute d'espèce contributive ou bien ne repose que sur une ou deux espèces notamment en tête de bassin versant, comme sur la Moselotte.

La pondération par les indices d'abondance-dominance accentue en général les écarts (FIG. 3), ce qui est le cas pour tous les exemples précités, sauf pour la Petite Seille. Ce renforcement du diagnostic correspond à un développement plus grand des espèces indicatrices dans les stations où elles sont à leur optimum, et à une minoration de l'effet des colonisations erratiques, notables lorsque le courant est important et les stations peu distantes les unes des autres comme sur le Scorff.

La prise en compte de la zone supra-aquatique est préconisée par les auteurs anglo-saxons dont les listes comprennent de nombreux hélophytes. Deux indices sont donc élaborés en prenant en compte soit la liste (GISA + SPA), soit le recouvrement relatif (GISA + SAD) des macrophytes sur l'ensemble du lit en eau et des zones supra-aquatiques (FIG. 4). Globalement les indices totaux varient dans le même sens que ceux calculés sur le seul lit en eau. Toutefois, ils sont souvent plus proches de la note médiane (5), en raison du caractère souvent euryèce de nombreux hélophytes.

FIG. 1.– Teneurs et évolution en azote ammoniacal (triangles) et en orthophosphates (carrés) des rivières étudiées - Causes des pollutions ponctuelles.
Concentrations and changes of Ammonium-Nitrogen (triangles) and Orthophosphates-Phosphorus (squares) in the studied streams - Nature of the localized pollution sources.

FIG. 2.– Indices aquatiques macrophytiques de présence : GISAQPA (carrés), GISAQStPA (triangles).
Aquatic macrophytic presence indices : GISAQPA (squares), GISAQStPA (triangles).

DISCUSSION - CONCLUSION

La démarche proposée est opérationnelle et applicable par des agents de terrain et des bureaux d'étude. Elle correspond à une demande des gestionnaires de posséder des outils de mise en œuvre simple. Ces indices macrophytiques utilisant une liste d'espèces ne rendent donc pas compte de la réalité des communautés végétales, en terme d'organisation et de fonctionnement. Des recherches complémentaires envisageant ce niveau des communautés sont déjà en cours sur des systèmes homogènes (CARBIENER *et al.*, 1990; MULLER, 1990a; DANIEL & HAURY, 1995) ou entre des cours d'eau de lithologie et de géochimie contrastées (ROBACH *et al.*, 1996). Les méthodes de diagnostic par les macrophytes seront donc complétée par les analyses comparant les phytocénoses observées aux phytocénoses potentielles.

Par rapport aux indices macrophytiques anglo-saxons, plusieurs améliorations sont apportées.

* La liste indicative des macrophytes des cours d'eau français a été complétée par rapport aux listes préexistantes. En effet, comme le climat est un facteur essentiel de détermination des éco-régions (CARBIENER *et al.*, 1995), certaines espèces manquent en Angleterre. Ces dernières anglo-saxonnes comprennent respectivement 74 taxons (HARDING, 1978 in *Standing Committee of Analysts* (H.M.S.O.) 1987), 86 taxons (HARDING, 1981) et 104 taxons (NEWBOLD & HOLMES, 1987).

• Les scores spécifiques correspondent au croisement de nombreuses informations sur de nombreuses (éco-) régions; ce croisement permet de rectifier certaines indications apparemment erronées ou trop partielles, probablement dues à une aire d'étude restreinte, et surtout différente du contexte français.

• La gamme des indices macrophytiques différenciés dont les limites sont précisées, permet d'obtenir des diagnostics complémentaires. La signification écologique des indices proposés diffère, si bien qu'il semble judicieux de les proposer comme des outils complémentaires :

• GISAQPA permet à la fois l'inventaire floristique et une diagnose du seul milieu aquatique. Cet indice est à préconiser lorsque les conditions de milieu physique sont très variables. Il est à peu près stable dans le temps, hormis si l'on veut prendre en compte les macro-algues dont les développements sont souvent très fugaces.

• Par comparaison avec l'indice précédent, GISAQStPA permet d'obtenir une diagnose plus contrastée et de mettre en évidence une éventuelle banalisation de la flore, les espèces euryèces se maintenant alors que les sténoèces de bonne qualité d'eau disparaissent : on retrouve alors la notion d'espèce polluo-tolérante de HASLAM (1982). Toutefois, lorsque la richesse spécifique

Source : MNHN

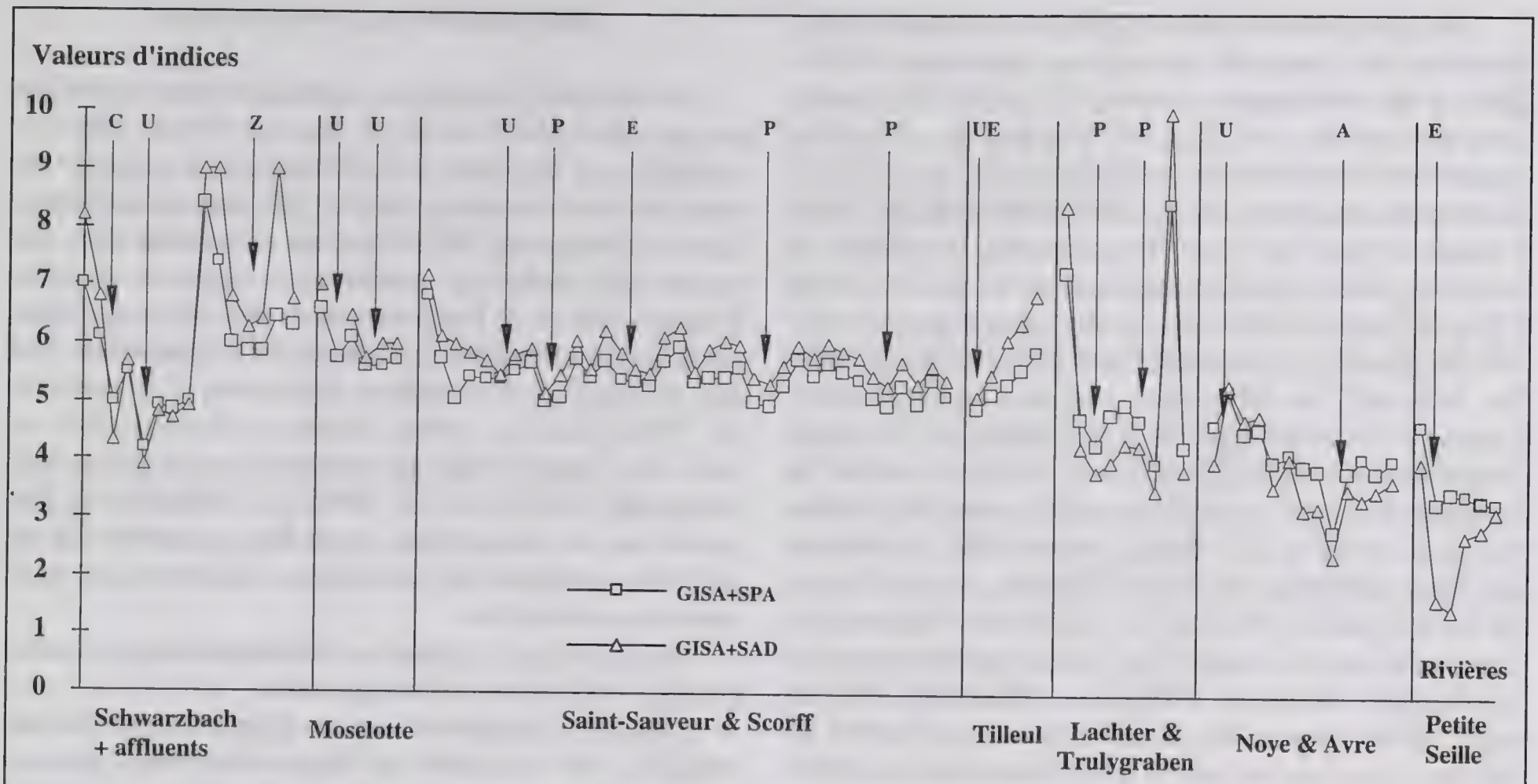


FIG. 3.– Indices aquatiques macrophytiques pondérés par l'abondance-dominance : GISAQAD (carrés), GISAQStAD (triangles). Légende : A : papeterie ; C : camping ; E : étang ; P : pisciculture ; U : rejets urbains ; Z : élévage bovin.

Aquatic macrophyte indices weighted by cover coefficients : GISAQD (squares), GISAQStAD (triangles).
Legend : A : paper mill; C : camping; E : pond; P : fishfarm; U : urban sewage input; Z : cattle breeding farm.

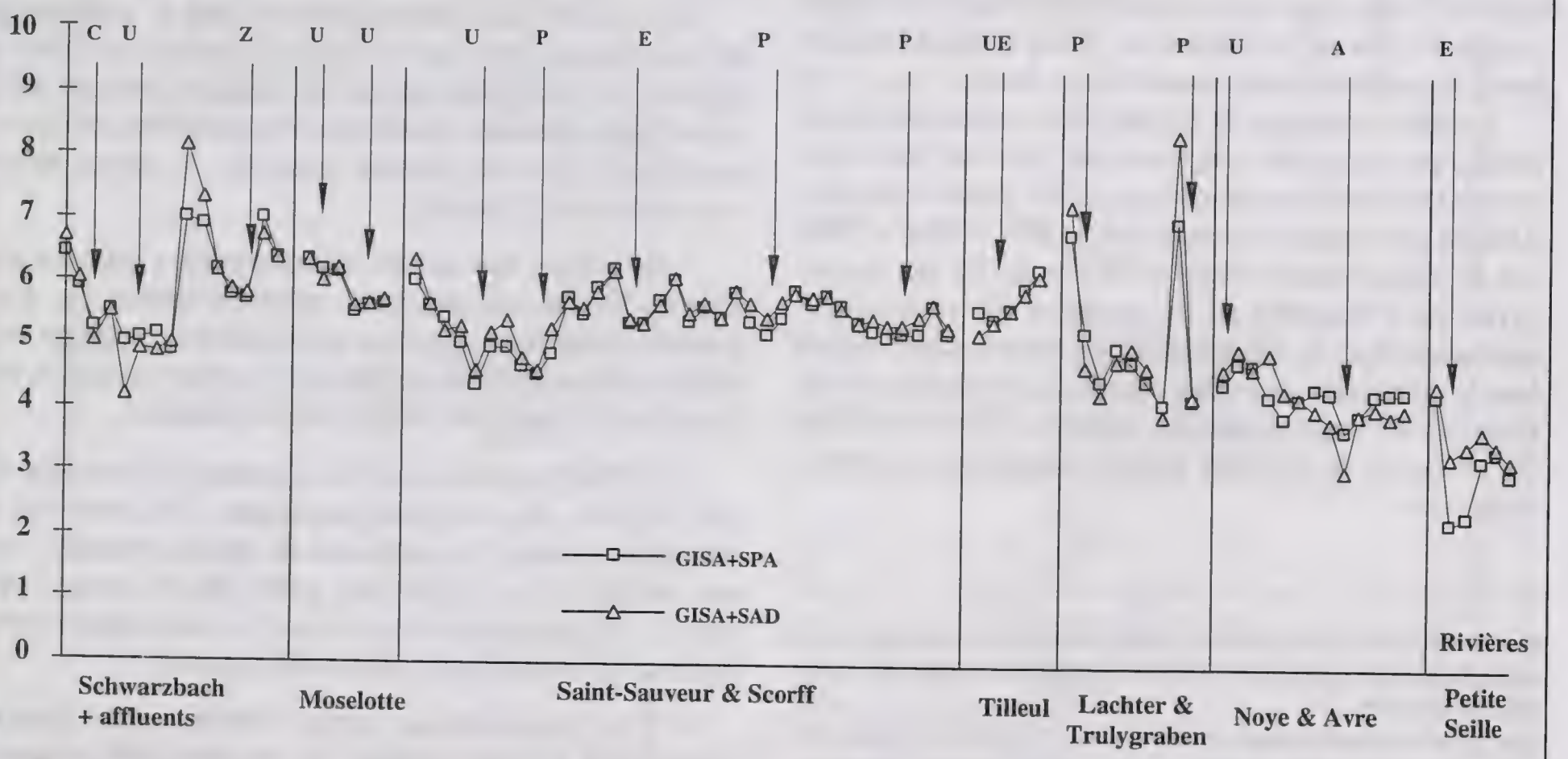


FIG. 4.– Indices macrophytiques de présence et d'abondance-dominance sur les zones aquatiques et supra-aquatiques : GISA+SPA (carrés), GISA+SAD (triangles). Légende : A : papeterie ; C : camping ; E : étang ; P : pisciculture ; U : rejets urbains ; Z : élévage bovin.

Macrophyte indices of presence and abundance-dominance in aquatic and supra-aquatic areas : GISA+SPA (squares), GISA+SAD (triangles). Legend : A : paper mill; C : camping; E : pond; P : fishfarm; U : urban sewage input; Z : cattle breeding farm.

Source : MNHN

est faible et les macrophytes épars, la recherche de ces espèces repères doit être effectuée de façon minutieuse sur de plus grandes longueurs de cours d'eau, pour s'assurer de leur absence ou de leur présence. Des règles d'échantillonnage complémentaire en fonction de la richesse spécifique et du recouvrement végétal seraient alors à établir, HOLMES & WHITTON (1977) préconisant d'aller jusqu'à 0,5 km de longueur pour le tronçon inventorié.

• GISAQAD : la pondération par le recouvrement prend mieux en compte les interrelations entre les macrophytes et le milieu physique. Cet indice prend partiellement en compte le fonctionnement des cours d'eau, et limite l'influence des colonisations accidentelles. Mais il intègre les variations saisonnières des recouvrements (atténuées par les coefficients d'abondance-dominance), et est donc d'interprétation délicate. Pour des études comparatives, il impose de travailler à l'optimum du recouvrement végétal, qui varie bien évidemment selon les éco-régions.

• GISA + SPA et GISA + SAD : la prise en compte de la zone supra-aquatique donne *a priori* un diagnostic moins précis de la qualité de l'eau, les espèces de cette zone étant moins dépendantes de la qualité de l'eau et intégrant la trophie des sédiments et du substrat de la berge. Mais lorsque la végétation aquatique est pauvre (fonds mobiles, grande profondeur), cette prise en compte s'avère utile car des espèces aquatiques telles que callitriches et renoncules, *Amblystegium riparium*, s'y réfugient et la seule considération du lit en eau amène à omettre ces espèces indicatrices. Néanmoins la grande richesse floristique de cette zone rend son étude délicate et incite à n'y rechercher que les espèces qui figurent dans la liste indicative élaborée par le GIS. Par ailleurs, cette zone permet d'apprécier l'intégrité physique du milieu, dans la mesure où elle est le lieu privilégié des phénomènes d'érosion ou de dépôt de matériaux. Un développement d'indices propres à cette zone est envisageable.

Les indices macrophytiques traduisent assez bien les variations de la qualité de l'eau, et notamment la pollution organique traduite ou non (pour les papeteries) par l'augmentation des concentrations des eaux en orthophosphates ou en azote ammoniacal. Toutefois, les discordances observées sur le Scorff et l'Avre notamment entre les résultats d'analyses d'eau et les variations d'indices témoignent de l'intérêt de ne pas se contenter d'analyses chimiques ponctuelles pour caractériser la qualité des eaux. Pour le Scorff, le contexte de très fortes concentrations en nitrates et d'eutrophisation pourrait entraîner une moindre sensibilité des macrophytes aux teneurs en azote ammoniacal, et le caractère très courant du site induit une homogénéisation de la flore, ce qui incite à pondérer par les recouvrements (HAURY, 1994b ; DANIEL & HAURY, 1995). Pour l'Avre, les rejets de la papeterie induisent le développement de colonies hétérotrophes ainsi qu'une forte turbidité qui se traduisent par une modification radicale des phytocénoses sans modification de certains paramètres chimiques de la qualité de l'eau. Par rapport au caractère ponctuel des analyses d'eau, les macrophytes sont donc des intégrateurs de nombreux paramètres de la qualité de l'eau, comme les références bibliographiques l'ont rappelé. La construction d'indices s'avère donc justifiée. Enfin, les variations moins accentués lors de la pondération par les recouvrements, dans le seul cas de la Petite Seille, correspond au développement d'espèces assez ubiquistes comme *Lemna minor, Phalaris arundinacea, Glyceria fluitans* à l'aval des étangs dont les indices sont plus proches de 5 et compensent le fort développement de *Potamogeton pectinatus*.

Toutefois, les cotes attribuées devront faire l'objet de recherches complémentaires, ne serait-ce parce que les valeurs seuils des paramètres discriminants varient selon les éco-régions (ROBACH *et al.*, 1996). Les données quantitatives espèces-facteurs physico-chimiques provenant des différents auteurs devront être ultérieurement traitées de façon comparative pour préciser l'écologie des espèces et leur variabilité éco-régionale.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient N. GRASMÜCK (2), F. ROBACH (3), H. DANIEL (1) et G. THIÉBAUT (2), Docteurs ou Doctorants, qui ont contribué à la récolte de nombreuses données. Leur gratitude va aussi à Mrs C. NOVAK, Enseignante d'Anglais à l'ENSA, qui a révisé le résumé et la version abrégée rédigés dans sa langue maternelle. Ce texte a été amélioré grâce aux remarques de deux lecteurs anonymes.

BIBLIOGRAPHIE

ABBAYES, H. (Des), CLAUSTRES, G., CORILLION, R., DUPONT, P., 1971.– *Flore et végétation du Massif armoricain. I - Flore vasculaire*. Pres. univ. Bretagne, Saint Brieuc : 1 226 p.

AUGIER, J., 1966.– *Flore des bryophytes*. Lechevalier, Paris : 702 p.

BLANDIN, P., 1986.– Bioindicateurs et biodiagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*, 17 : 215-307.

BOURRELLY, P., 1968.– *Les algues d'eau douce - Les algues jaunes et brunes*. Boubée, Paris : 438 p.

BOURRELLY, P., 1970.– *Les algues d'eau douce - Les algues bleues et rouges*. Boubée, Paris : 512 p.

BOURRELLY, P., 1990.– *Les algues d'eau douce - Les algues vertes* (2e Ed.). Boubée, Paris : 569 p.

BRAUN-BLANQUET, J., 1964. *Pflanzensociologie*. Springer Verlag, Wien : 865 p.

BUTCHER, R.W., 1933.– Studies on the ecology of rivers - I : On the distribution of macrophytic vegetation in the rivers of Britain. *J. Ecol.*, 21 : 58-91.

CARBIENER, R., TREMOLIERES, M., MERCIER, J.L., & ORTSCHEIT, A., 1990.– Aquatic macrophyte communities as bioindicators of eutrophication in calcareous oligosaprobe stream waters (Upper Rhine plain, Alsace), *Vegetatio*, 86 : 71-88.

CARBIENER, R., MULLER, S., TREMOLIERES, M., 1995.– Végétation des eaux courantes et qualité des eaux : une thèse,

Source : MNHN

des débats, des perspectives. *Acta bot. Gallica*, 142 : 489-531.

DANIEL, H., HAURY, J., 1995.– Effects of fish farm pollution on phytocoenoses in an acidic river (the river Scorff, south of Brittany). *Acta bot. Gallica*, 142 : 639-650.

EMPAIN A., LAMBINON J., MOUVET C., KIRCHMANN R., 1980.– Utilisation des bryophytes aquatiques et subaquatiques comme indicateurs biologiques de la qualité des eaux courantes. In P. PESSON (Ed.), *La pollution des eaux continentales - Incidences sur les biocénoses aquatiques* (2e éd.) : 195-223, Gauthier Villars, Paris.

FOURNIER, P., 1977.– *Les quatre flores de France* (2e éd.). 2 vol. Lechevalier, Paris : 1414 p.

GAUME, R., 1955-1956.– Catalogue des muscinées de Bretagne, d'après les documents inédits du Dr F. CAMUS. *Rev. Bryol. Lichénol.*, 24 : 1-28, 183-192; 25 : 1-115.

GUINOCHET, M., 1973.– *Phytosociologie.* Masson, Paris : 227 p.

GRASMUCK, N., 1994.– *La végétation des cours d'eau de Lorraine : typologie floristique et écologique - Contribution à l'étude de l'autoécologie des espèces de la flore aquatique lorraine*. Thèse de Doctorat Sciences, Université de Metz, 2 vol. : 248 p. + 219 p. ann.

HARDING, J.P.C., 1981.– Macrophytes as monitors of river quality in the Southern N.W.W.A. area. North West Water Authority, Rivers Division, réf. N° TS-BS-81-2, 1-54.

HASLAM, S.M., 1982.– A proposed method for monitoring river pollution using macrophytes. *Envir. Technol. Letters*, 3 : 19-34.

HASLAM, S.M., 1987.– *River plants of Western Europe.* Cambridge Univ. Press, Cambridge : 512 p.

HAURY, J., 1985.– *Etude écologique des macrophytes du Scorff (Bretagne-Sud).* Thèse Dr-Ing. Ecologie, Université de Rennes I, 243 p.

HAURY J., 1990.– Macrophytes du Trieux (Bretagne-Nord) : III : Relations macrophytes-qualité des eaux. *Bull. Soc. Sc. nat. Ouest de la France, Nouv. Sér.*, 12 : 141-154.

HAURY, J., 1994a.– Les associations macrophytiques vasculaires en tant que descripteurs des caractéristiques d'habitat des cours d'eau à saumons : exemple du Scorff. *In* : GEHU, J.-M., (eds) *La Syntaxonomie et la Synsystématique Européennes, comme Base Typologique des Habitats*, Cramer Ed., Berlin Stuttgart, 31-54.

HAURY, J., 1994b.– Les macrophytes, estimateurs de la qualité des cours d'eau. *In* CHARTIER-TOUZE N., COLLIN M.P., GALVIN Y. (Eds.) : *Les variables biologiques de la qualité des écosystèmes aquatiques,* Paris, 2-3 Nov. 1994 : 153-170, Min. Environn., GIP Hydrosystèmes, A.G.H.T.M.

HAURY, J. & PELTRE, M.-C., 1993.– Intérêts et limites des "indices macrophytes" pour qualifier la mésologie et la physico-chimie des cours d'eau : exemples armoricains, picards et lorrains. *Annls Limnol.*, 29 : 239-253.

HOLMES, N.T.H., 1983.– *Typing British rivers according to their flora.* Focus on nature conservancy 4, Nature Conservancy Council, Huntingdon, U.K.: 194 p.

HOLMES, N.T.H. & NEWBOLD C., 1984.– *River plant communities. Reflectors of water and substrate chemistry.* Nature Conservancy Council., 9 Schrewsbury, U.K. : 73 p.

HOLMES, N.T.H. & WHITTON, B.A., 1977.– The macrophytic vegetation of the river Tees : observed and predicted changes. *Freshwat. Biol.*, 7 : 43-60.

ISERENTANT R., SLOOVER J. (de), 1976.– Le concept de bioindicateur. *Mém. Soc. roy. Bot. Belgique*, 7 : 15-24.

LANGHE, J.E. (De), DELVOSALLE, L., DUVIGNEAUD, J., LAMBINON, J., VANDEN BERGHEN, C., 1983.– *Nouvelle flore de la Belgique, du Grand Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines (Ptéridophytes et Spermaphytes).* 3e Ed. Ed. patrim. Jard. bot nat. Belgique, Meise : 1015 p.

MERIAUX, J.L., 1978.– Etude analytique et comparative de la végétation aquatique d'étangs et de marais du Nord de la France. *Doc. Phytosociol.*, 3 : 1-244.

MERIAUX J.L., WATTEZ J.R., 1980.– Les végétations aquatiques et subaquatiques : relations avec la qualité des eaux. *In* P. PESSON (Ed.), *La pollution des eaux continentales - Incidences sur les biocénoses aquatiques* (2e éd.) : 225-242, Gauthier Villars, Paris.

MULLER, S., 1990a.– Une séquence de groupements végétaux bioindicateurs d'eutrophisation croissante des cours d'eau faiblement minéralisés des Basses Vosges gréseuses du Nord. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 310, Sér. III : 509-514.

MULLER, S., 1990b. Végétaux aquatiques dans les rivières du bassin Rhin-Meuse. Synthèse bibliographique commentée (répartition - phytosociologie - écologie) des espèces vasculaires. Agence de l'Eau Rhin-Meuse, Moulins-lès-Meuse : 45 p.

NEWBOLD, C., HOLMES, N.T.H., 1987.– Nature conservation : water quality criteria and plants as water quality monitors. *Water Pollution Control.*, 86 : 345-364.

OBERDORFER, E., 1990.– *Pflanzensoziologische Exkursionsflora* (6e éd.). Ulmer, Stuttgart : 1050 p.

ROBACH, F., THIEBAUT, G., TREMOLIERES, M., MULLER, S., 1996 (à paraître). A reference system for continental running waters : plant communities as bioindicators of increasing eutrophication in alkaline and acidic waters in the North Eastern France. *Hydrobiologia* (sous presse).

STANDING COMMITTEE OF ANALYSTS (H.M.S.O.) (HASLAM S.M., HOLMES N.T.H., HARDING J.P.C.), 1987.– *Methods for the use of aquatic macrophytes for assessing water quality.* Her Majesty's Stationery Office, London : 176 p.

THIEBAUT, G., MULLER, S., 1995.– Nouvelles données relatives à la séquence de bioindication de l'eutrophisation dans les cours d'eau faiblement minéralisés des Vosges du Nord. *Acta bot. Gallica*, 142 : 627-638.

TREMOLIERES, M., 1994.– Les outils biologiques d'évaluation de la qualité des eaux continentales. *Bull. Assoc. Philom. Alsace Lorraine*, 30 : 77-90.

TREMOLIERES, M., CARBIENER, R., ORTSCHEIT, A. & KLEIN, J.-P., 1994.– Changes in aquatic vegetation in Rhine floodplain streams in Alsace in relation to disturbance. *J. Veget. Sc.*, 5 : 169-178.

TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGES, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M., WEBB, D.A. (Eds) 1964 à 1980 - *Flora europaea.* 5 vol., 1 : 1964, 464 p. ; 2 : 1968, 455 p. ; 3 : 1972, 385 p.; 4 : 1976 405 p.; 5 : 1980, 452 p., Cambridge University Press, Cambridge.

WHITTON B.A., 1979.– Plants as indicators of river water quality. In JAMES A., EVISON L. (Eds.) : Biological indicators of water quality, pp. 5,1-5,34. Wiley & Sons Ed., Chichester.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

After a comparative study (HAURY & PELTRE, 1993), the Group of Scientific Interest (GIS) "Macrophytes of inland waters" initiated a synthetic programme focusing on macrophytes as stream quality bioindicators. The present purpose is to improve previously existing macrophyte indices, mostly established by anglo-saxon authors, and to apply our proposals to French streams.

A checklist of 242 taxa found in French watercourses is given. It is established from the authors' previous surveys, regional flora and few published data dealing with French stream vegetation. The main

Source : MNHN

represented groups are genus of algae, species of bryophytes, pteridophytes and vascular spermatophytes. Few unfrequent species, mountain macrophytes or hybrids are considered in the list. Species which could not be determined *in situ* are not included.

Available indices are analysed, showing two different concepts. The first is based on the calculation of an average value of specific indices (HARDING 1978 in *Standing Committee of Analysts* 1987 (H.M.S.O.), NEWBOLD & HOLMES 1987). The second estimates the distance from observed vegetation to a reference community (HASLAM 1982). Although this approach is obviously useful, some species scores appear of little value and some methods display taxonomic weaknesses.

Our proposals for species indices involve both literature and personal observations. A bioindicative value is given to each species, according to water quality in relation to trophic level. Choosing specific scores from 0 (low water quality) to 10 (rhigh water quality) is both simple and adapted to field surveys. For each record, specific indices of present species are summed and the average constitutes the presence/ absence index (PA). Weighting by plant cover (phytosociological coefficients - BRAUN-BLANQUET 1964) improves the diagnosis and constitutes the abundance-dominance index (0.5 to 5). Six different indices are presented, using only aquatic stenoecious species (AQSt), all aquatic macrophytes (AQ), and adding species found in the supra-aquatic zone (A + S), both for presence-absence and abundance-dominance.

In order to test our proposals, these indices were applied to field data. The macrophyte surveys were undertaken on stream sections of at least 50 m long. A complementary survey was undertaken on the supra-aquatic belt, searching for particular supra-aquatic species. Physico-chemical analyses were performed at different periods on the streams, with special attention paid to mineralisation and nutrient parameters. In this study, 90 sections, over 10 watercourses (main rivers or tributaries), were chosen, with different geological substrata, trophic levels and pollution conditions: two in Britanny (granite, schist), two in Picardie (limestone), one in Normandy (schist, gneiss), two in Northern Vosges (sandstone, granite), two in Alsace (limestone) and one in Lorraine (clay).

The indices give a good expression of the variations of water quality, and especially orthophosphates or ammonium increases. The proposed indices have different ecological significance and have complementary values.

- The GISAQPA index (all aquatic species expressed in presence/absence), is pertinent for an aquatic vegetation diagnosis when physical environmental conditions are variable, and when the number of species is low. This index can be used from May to October. It is quite stable, except when the macro-algae composition changes.

• The GISAQStPA index (aquatic stenoecious species only) in presence/absence, gives more contrasted results and assesses possible standardisation of the flora as high water quality indication species disappear and ubiquitous species remain.

• Indices involving the percentage of cover integrate the relationships between macrophytes and their environment. They limit the influence of accidental colonisation and assess possible change of vegetation structure due to environmental perturbation. Due to seasonal variations of cover, their use and interpretation are more difficult.

• Indices considering the supra-aquatic zone give a less accurate diagnosis of the water quality, since supra-aquatic species also assess sediment, trophic and bank substratum features. However, when the aquatic vegetation is poor, they are useful to build up species numbers, even if the diagnosis loses some accuracy. Moreover, some aquatic species can take shelter in the supra-aquatic zone when the river bed is unstable. The study of this zone is complicated by its high species richness, and a selection of the most representative species is preferable.

Improvements on the previous indices are:

• a comprehensive list of macrophytes found in French watercourses,

• specific scores corresponding to observations obtained from many regions, which allow to amend some partial or false informations, often due to restricted study areas,

• a choice of complementary indices, with indications of their limits and the distinction of supra- aquatic areas.

• the weighting by macrophyte species cover.

In conclusion, the proposed indices and the applied test show that a diagnosis involving only stenoecious species is the most accurate. Weighting by macrophyte species cover increases the accuracy of the diagnosis. Nevertheless, most of the specific scores need to be calculated. Quantitative relationships between species and abiotic parameters studied by different authors should be analysed comparatively to establish species ecology and eco-regional variability. Further investigations at the macrophyte community level will have to be carried out and the present macrophyte indices should be complemented by comparisons with reference phytocenosis.

Source : MNHN

ANNEXE I.– Liste des macrophytes des cours d'eau français et cotes spécifiques proposées. Colonnes - A : zones aquatiques; A + S : ensemble des zones aquatiques et supra-aquatiques; E : espèces euryèces. Taxons : X devant un nom : hybride; s.l. : *sensu lato*; gr : groupe.

Species list of macrophytes found in French rivers, and proposed specific scores. Columns - A : aquatic zones; A + S : aquatic and supra-aquatic zones; E : euryecious species. Taxa - X before a name : hybrid; s.l. : sensu lato*; gr : group.*

ESPECES OU GENRES/ MILIEUX	A	A + S	E	ESPECES OU GENRES/ MILIEUX	A	A + S	E
ORGANISMES HÉTÉROTROPHES				*Cratoneuron filicinum*		8	
Leptomitus sp. ou *Sphaerotilus* sp.	0	0		*Drepanocladus aduncus* + autres sp.		7	
ORGANISMES AUTOTROPHES				*Fissidens* sp. (aquatiques)	7	7	X
ALGUES ET CYANOBACTÉRIES				*Fontinalis antipyretica*	5	5	
Audouinella sp.	4	4		*Fontinalis squamosa*	9	9	
Batrachospermum sp.	8	8		*Hookeria lucens*		8	
Chara sp.	6	6		*Hygrohypnum dilatatum*	10	10	
Cladophora sp.	3	3	X	*Hygrohypnum luridum*	10	10	
Draparnaldia sp.	9	9		*Hygrohypnum ochraceum*	10	10	
Enteromorpha sp.	2	2		*Hyocomium armoricum*	10	10	
Hildenbrandia sp.	7	7		*Mnium punctatum*		8	
Hydrodictyon sp. (*reticulatum*)	2	2		*Octodiceras fontanum*	5	5	
Lemanea sp.	7	7		*Pachyfissidens grandifrons*	6	6	
Melosira sp.	4	4		*Philonotis caespitosa* + autres sp.		7	
Nitella sp.	6	6		*Platyhypnidium rusciforme*	5	5	X
Oscillatoria sp.	3	3		*Rhacomitrium aciculare*		9	
Phormidium sp + *Lyngbia* sp.	2	2	X	*Schistidium rivulare*		9	
Rhizoclonium sp.	4	4		*Sphagnum* gr. *inundatum*	10	10	
Spirogyra sp.	5	5	X	*Sphagnum* gr. *palustre*		9	
Stigeoclonium sp.	1	1	X	*Thamnium alopecurum*		7	
Ulothrix sp.	5	5		PTÉRIDOPHYTES			
Vaucheria sp.	2	2	X	*Azolla filiculoïdes (+ A. caroliniana)*	3	3	
BRYOPHYTES				*Equisetum fluviatile*	6	6	
HÉPATHIQUES				*Equisetum palustre*	5	5	
Chiloscyphus polyanthus s.l.	7	7		*Osmunda regalis*		7	
Conocephalum conicum		7		PHANÉROGAMES			
Lunularia cruciata		5		DICOTYLÉDONES			
Marchantia polymorpha		6		*Apium inundatum*	7	7	
Marsupella aquatica		9		*Apium nodiflorum*	5	5	X
Marsupella emarginata		9		*Berula erecta*	6	6	X
Nardia compressa	10	10		*Callitriche hamulata*	6	6	
Nardia acicularis	10	10		*Callitriche obtusangula*	4	4	
Pellia sp.		6		*Callitriche platycarpa*	5	5	X
Porella cordeana		7		*Callitriche stagnalis*	6	6	
Porella pinnata	7	7		*Callitriche truncata*	6	6	
Porella platyphylla		7		*Caltha palustris*	6	6	X
Riccardia pinguis	7	7		*Cardamine amara*		7	
Riccardia sinuata	7	7		*Ceratophyllum demersum*	2	2	
Riccia fluitans	3	3		*Ceratophyllum submersum*	2	2	
Scapania undulata	8	8		*Chrysosplenium alternifolium*		7	
Solenostoma crenulata	10	10		*Chrysosplenium oppositifolium*		7	
Solenostoma triste	10	10		*Galium palustre*	6	6	X
MOUSSES				*Helodes palustris*	8	8	
Amblystegium fluviatile	5	5		*Hippuris vulgaris*	4	4	
Amblystegium riparium	3	3		*Hottonia palustris*	6	6	
Amblystegium tenax		7		*Hydrocotyle vulgaris*	7	7	
Brachythecium rivulare		7	X	*Lycopus europaeus*		5	
Cinclidotus aquaticus	6	6		*Lysimachia nummularia*		6	
Cinclidotus danubicus	5	5		*Lysimachia thyrsiflora*		6	
Cinclidotus fontinaloides	5	5		*Lysimachia vulgaris*		6	
Cinclidotus riparius	6	6		*Lythrum salicaria*		5	X
Cratoneuron commutatum	7	7		*Mentha aquatica*	6	6	X

Source : MNHN

ANNEXE I.– Liste des macrophytes des cours d'eau français et cotes spécifiques proposées. Colonnes - A : zones aquatiques ; A + S : ensemble des zones aquatiques et supra-aquatiques ; E : espèces euryèces. Taxons : X devant un nom : hybride ; s.l. : *sensu lato* ; gr : groupe.

Species list of macrophytes found in French rivers, and proposed specific scores. Columns - A : aquatic zones ; A + S : aquatic and supra-aquatic zones ; E : euryecious species. Taxa - X before a name : hybrid ; s.l. : sensu lato *; gr : group.*

ESPECES OU GENRES/ MILIEUX	A	A + S	E	ESPECES OU GENRES/ MILIEUX	A	A + S	E
Mentha longifolia		7		MONOCOTYLÉDONES			
Montia fontana		7	X	*Acorus calamus*	4	4	
Myosotis gr. *scorpioïdes*	6	6	X	*Agrostis stolonifera*	4	4	X
Myosoton aquaticum		5		*Alisma lanceolatum*	4	4	
Myriophyllum alterniflorum	7	7		*Alisma plantago-aquatica*	4	4	X
Myriophyllum spicatum	3	3		*Alopecurus geniculatus*		4	
Myriophyllum verticillatum	5	5		*Alopecurus fulvus (=A. aequalis)*		5	
Nasturtium officinale s.l.	4	4		*Butomus umbellatus*	4	4	
Nuphar lutea	4	4	X	*Carex acuta*		6	
Nymphaea alba	6	6		*Carex acutiformis*		5	
Oenanthe aquatica	5	5		*Carex elata*		6	
Oenanthe crocata	6	6		*Carex nigra*		8	
Oenanthe fluviatilis	4	4		*Carex paniculata*		6	
Peplis portula		6		*Carex pendula*		7	
Petasites hybridus		6		*Carex pseudocyperus*		4	
Peucedanum palustre		6		*Carex riparia*		4	
Polygonum amphibium	4	4		*Carex rostrata*		8	
Polygonum hydropiper	4	4	X	*Carex vesicaria*		6	
Potentilla palustris	7	7		*Catabrosa aquatica*	6	6	
Ranunculus aquatilis	5	5		*Cyperus vegetus (= C. eragrostis)*		6	
Ranunculus baudotii	5	5		*Eleocharis acicularis*	7	7	
Ranunculus circinatus	5	5		*Eleocharis palustris*	6	6	
Ranunculus flammula	7	7		*Elodea canadensis*	5	5	
Ranunculus fluitans	4	4		*Egeria densa (= Elodea densa)*	4	4	
Ranunculus hederaceus	5	5		*Elodea ernstiae (= E. callitrichoides)*	3	3	
Ranunculus hololeucos	9	9		*Elodea nuttallii*	3	3	
Ranunculus omiophyllos	9	9		*Eriophorum angustifolium*		8	
Ranunculus peltatus	6	6		*Glyceria fluitans*	6	6	X
Ranunculus penicillatus var. *calcareus*	6	6		*Glyceria maxima*	3	3	
Ranunculus penicillatus var. *penicillatus*	6	6		*Glyceria notata*		5	
Ranunculus rionii	4	4		*Groenlandia densa (= Potamogeton d.)*	4	4	
Ranunculus sardous		5		*Hydrocharis morsus-ranae*	5	5	
Ranunculus sceleratus	4	4		*Iris pseudacorus*	5	X	
Ranunculus trichophyllus	4	4		*Juncus acutiflorus*		7	
Rorippa amphibia	3	3		*Juncus articulatus*	5	5	
Rumex hydrolapathum		3		*Juncus bufonius*		6	
Scrophularia auriculata		5		*Juncus bulbosus*	7	7	
Scrophularia umbrosa		5		*Juncus conglomeratus*	4	X	
Scutellaria galericulata		6		*Juncus effusus*	5	X	
Sibthorpia europaea		7		*Juncus inflexus*	5	X	
Sium latifolium		3		*Juncus maritimus*		5	
Solanum dulcamara		5		*Juncus ranarius (= J. ambiguus)*		6	
Stachys palustris		5		*Juncus subnodulosus*		8	
Stellaria alsine		7		*Leersia oryzoïdes*		4	
Trapa natans	4	4		*Lemna gibba*	2	2	
Veronica anagallis-aquatica	5	5	X	*Lemna minuscula*	3	3	
Veronica beccabunga	4	4		*Lemna minor*	5	5	X
Veronica catenata	5	5		*Lemna trisulca*	6	6	
Veronica scutellata		6		*Luronium natans*	7	7	
Viola palustris		8		*Molinia coerulea*		7	

Source : MNHN

ANNEXE I.– Liste des macrophytes des cours d'eau français et cotes spécifiques proposées. Colonnes - A : zones aquatiques; A + S : ensemble des zones aquatiques et supra-aquatiques; E : espèces euryèces. Taxons : X devant un nom : hybride; s.l. : *sensu lato*; gr : groupe.

Species list of macrophytes found in French rivers, and proposed specific scores. Columns - A : aquatic zones; A + S : aquatic and supra-aquatic zones; E : euryecious species. Taxa - X before a name : hybrid; s.l. : sensu lato*; gr : group.*

ESPECES OU GENRES/ MILIEUX	A	A + S	E	ESPECES OU GENRES/ MILIEUX	A	A + S	E
Najas marina	3	3		*Ruppia maritima*	3	3	
Nymphoïdes peltata	4	4		*Sagittaria sagittifolia*	3	3	
Phalaris arundinacea	5	5	X	*Scirpus fluitans*	8	8	
Phragmites australis	4	4	X	*Scirpus lacustris*	4	4	
Potamogeton acutifolius	6	6		*Scirpus maritimus*		4	
Potamogeton alpinus	6	6		*Scirpus setaceus*		8	
Potamogeton berchtoldii	5	5		*Scirpus sylvaticus*		6	
Potamogeton coloratus	10	10		*Scirpus tabaernae-montani*	6	6	
Potamogeton compressus	3	3		*Sparganium angustifolium*	10	10	
Potamogeton crispus	4	4		*Sparganium emersum*	5	5	
Potamogeton friesii	5	5		*Sparganium erectum*	5	5	X
Potamogeton gramineus	4	4		*Sparganium minimum*	6	6	
Potamogeton helveticus	4	4		*Spirodela polyrhiza*	3	3	
Potamogeton lucens	4	4		*Typha angustifolia*		4	
Potamogeton natans	6	6	X	*Typha latifolia*	3		
X Potamogeton nitens	5	5		*Vallisneria spiralis*	3	3	
Potamogeton nodosus	2	2		*Wolffia arhiza*	4	4	
Potamogeton obtusifolius	5	5		*Zannichellia palustris*	2	2	
Potamogeton pectinatus	1	1		ESPECES ADDITIONNELLES DE MONTAGNE			
Potamogeton perfoliatus	4	4		HÉPATIQUE			
Potamogeton panormitanus	5	5		*Scapania paludosa*	10	10	
Potamogeton polygonifolius	9	9		SPERMATOPHYTES DICOTYLÉDONES			
X Potamogeton spathulatus	7	7		*Cardamine latifolia*		9	
Potamogeton trichoïdes	4	4		*Cardamine resedifolia*		9	
Potamogeton zizii	3	3		*Potamogeton praelongus*	6	6	
X Potamogeton variifolius	6	6					

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 245-256

ÉCOLOGIE DES MACROPHYTES AQUATIQUES D'UNE RIVIÈRE ARMORICAINE (LE SCORFF, BRETAGNE SUD, FRANCE), APPLICATION À LA BIOINDICATION*

Hervé DANIEL[1] & Jacques HAURY[2, 1]

[1] *Laboratoire INRA d'Écologie Aquatique - 65, rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France.*
[2] *DEERN - Laboratoire d'Écologie et de Sciences Phytosanitaires, ENSAR, 65, rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France.*

SUMMARY
(original scientific paper)

ECOLOGY OF AQUATIC MACROPHYTES IN AN ARMORICAN RIVER (THE RIVER SCORFF, SOUTHERN BRITTANY, FRANCE), APPLICATION TO BIOINDICATION.
Macrophytic river vegetation appears sensitive to both physical and chemical factors of the habitat. The use of this property of aquatic plants requires quantitative knowledge of their ecology in a regional context. This relationship was studied in the River Scorff and its tributaries (Brittany, France), where 207 stations were sampled. An agglomerative hierarchichal classification enabled the assessment of the physical typology of these stations. The distribution of 39 taxa between clusters resulting from this classification was presented using bi-unvarying ecological profiles, and the relevance of taking into account the macrophyte cover was studied. The effect of water chemistry on vegetation was more accurately assessed within the clusters. The usefulness of these ecological results for a bioindication system is discussed.

KEY WORDS : Macrophyte - Stream - Water quality - Ecological profile - Bioindication.

RÉSUMÉ
(travail original)

La végétation macrophytique des rivières apparaît sensible à la fois aux paramètres physiques et chimiques de son habitat. Cependant, quantifier ce lien des plantes à leur environnement nécessite des connaissances précises de leur écologie, et celle-ci reste encore peu connue dans un contexte régional. Les relations des macrophytes à leur habitat ont été étudiées sur 207 stations du Scorff et de ses affluents (Bretagne). Une classification ascendante hiérarchique a permis de réaliser une typologie de ces stations vis-à-vis de leur habitat physique. La distribution de 39 taxons entre ces classes multivariées est présentée sous la forme de profils écologiques bi-invariants, et l'intérêt de la prise en compte de l'abondance est montrée, sauf pour les hydrophytes. L'influence des paramètres chimiques de la qualité de l'eau apparaît mieux en sélectionnant préalablement ces classes optimales d'habitat physique. La possibilité d'intégration de ces connaissances écologiques dans un système de bioindication est discutée.

MOTS CLÉS : Macrophyte - Rivière - Qualité des eaux - Profil écologique - Bioindication.

INTRODUCTION

De nombreux travaux ont montré que la distribution des macrophytes en rivière n'est pas aléatoire, mais traduit une réponse de la végétation (en terme de population ou de communauté) à son environnement, considéré au travers de paramètres physiques ou chimiques (HASLAM, 1978, 1987; MULLER, 1990; TRÉMOLIÈRES *et al.*, 1994...). Cette capacité indicatrice des macrophytes aquatiques (littéralement "grandes plantes", et caractérisés par la possibilité de reconnaissance sur le terrain, BUTCHER, 1933) peut être utile à une évaluation biologique de la qualité des cours d'eau. Plusieurs indices macrophytes de qualité des eaux ont déjà été proposés, basés en particulier sur une synthèse de connaissances de terrain (HASLAM, 1987; NEWBOLD & HOLMES, 1987; ANONYME, 1987; HAURY *et*

* Manuscrit reçu le 15 juillet 1996; version révisée acceptée pour publication le 18 novembre 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

al., 1995). Cependant, d'autres paramètres environnementaux peuvent agir sur la végétation des rivières, comme le régime hydrique (BARRAT-SEGRETAIN & AMOROS, 1995). Dans le Massif armoricain, la pertinence de ces indices macrophytes s'avère effectivement limitée, non par l'influence des facteurs hydrologiques (très stables l'été, en période de végétation), mais des caractéristiques de l'habitat physique sur la végétation (DANIEL & HAURY, 1996). Si l'on souhaite établir un indice de bioindication de la qualité physico-chimique des eaux, il est donc nécessaire de faire préalablement la part de l'influence de l'habitat physique en la quantifiant le plus rigoureusement possible. Travaillant ensuite au sein de classes à peu près homogènes d'habitat physique, il devient alors possible de dégager correctement les seules relations entre végétation et qualité des eaux, bases d'un indice fiable de bioindication. Le présent travail a pour objet de mener successivement ces deux analyses, préludes à la mise au point d'un outil de bioindication pour les rivières bretonnes.

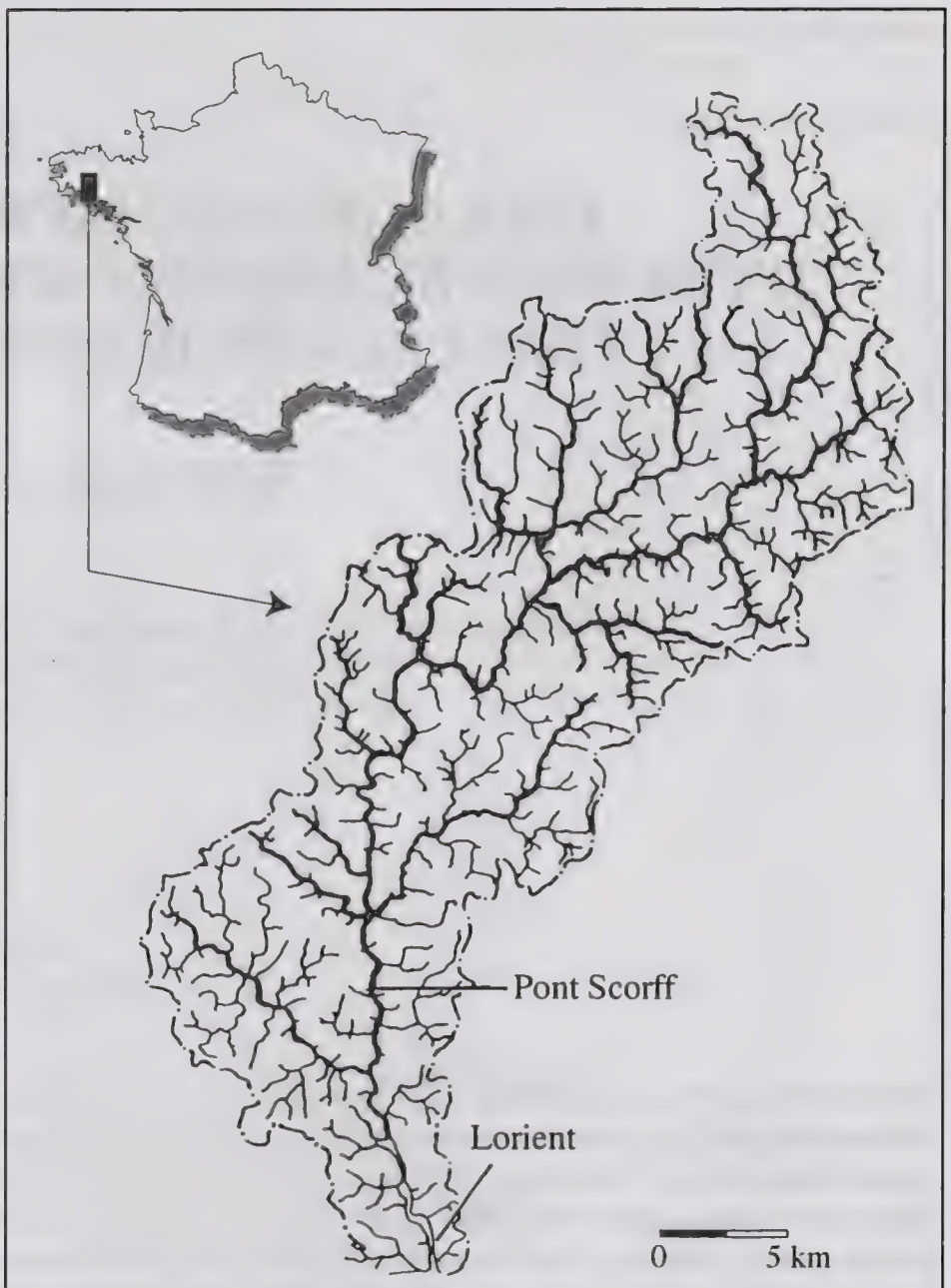


FIG 1.– Site d'étude.
Study site.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

COLLECTE DES DONNÉES

Le travail effectué porte sur la partie continentale du Scorff (d'une longueur de 62 km) et de ses affluents (FIG. 1). Le sous-sol du bassin versant de ce réseau hydrographique est constitué essentiellement de roches cristallophylliennes, et draine donc des eaux relativement acides et peu minéralisées (TAB. I). Les principales sources de pollution de cette rivière à saumons sont les rejets de trois pisciculture, ainsi que des pollutions diffuses liées aux activités agricoles. Les stations d'étude, choisies pour leur homogénéité d'habitat physique, ont une longueur de 50 m. Le travail porte sur 207 stations, correspondant à un échantillonnage stratifié selon l'ordre de drainage, l'écoulement et la lumière (HAURY, 1985).

Un relevé floristique a été réalisé sur l'ensemble de chaque station en juillet 1994 (période hydrologiquement stable), avec une estimation visuelle des recouvrements, celle-ci étant calibrée avec la méthode des points contacts (DANIEL, 1993). Les macrophytes étudiés incluent les genres de macroalgues, les espèces de bryophytes (taxonomie se référant SMITH, 1978 pour les mousses, et à SMITH, 1990, pour les hépatiques) et les espèces de spermaphytes (taxonomie se référant à TUTIN *et al.*, 1964 à 1980) se développant dans les zones aquatiques. Il existe des classifications détaillées de cet ensemble de végétaux très divers, combinant des critères systématiques, morphologiques et écologiques (DEN HARTOG & VAN DER VELDE,

TABLEAU I.– Caractéristiques chimiques de l'eau des stations échantillonnées.
Chemical characteristics of water in the sampled stations.

	Conductivité (µS/cm)	**Orthophosphates** (mg-PO_4/l)	**Nitrates** (mg-NO_3/l)	**Ammonium** (mg-NH_4/l)	**pH**
Moyenne	184	0,12	31	0,06	6,49
Écart-type	52	0,12	11	0,22	0,42
Minimum	102	0,00	9	0,00	5,00
Maximum	694	0,95	91	4,80	7,39

Source : MNHN

1988). Une typologie simple sera suffisante pour les besoins de ce travail. C'est ainsi que seront distinguées les algues, les bryophytes, les hydrophytes et les autres plantes, dites émergées (pouvant développer des parties végétatives au-dessus de la surface de l'eau), incluant des hélophytes et diverses plantes hygrophiles.

Les caractéristiques de l'habitat physique ont été relevées au printemps 1993 et 1994; elles incluent la profondeur, la largeur, la granulométrie du substrat (estimation visuelle), la vitesse du courant (mesurée par flottaison) ainsi que le type d'écoulement à la surface de l'eau (laminaire : absence de rides en surface, friselis : présence de rides en surface, turbulent : forte agitation de surface et formation d'écume). La lumière incidente sur la station a été évaluée en fonction du recouvrement de la végétation surplombant le lit de la rivière. Trois campagnes d'analyses d'eau (janvier 1993, juillet 1993 et juillet 1994) ont permis de caractériser la qualité chimique de l'eau (pH, conductivité, principaux nutriments minéraux). En raison de la proximité de certaines stations (distantes de moins de 200 m, et sans modification importante des conditions chimiques), les prélèvements d'eau ont été réalisés sur un sous-échantillon : 160 analyses ont été effectuées lors de chaque campagne. Les dosages des éléments chimiques ont été obtenus par spectrophotométrie : nitrates (méthode Merck), nitrites (réaction de Griess), ammonium (méthode au bleu d'indophénol, réaction de Berthelot), orthophosphates (méthode à l'heptamolibdate d'ammonium), chlorures (réaction avec le mercure II thiocyanate), fer (méthode Merck dosant le fer de degré d'oxydation II et III, ainsi que les complexes faibles de fer).

TRAITEMENT DES DONNÉES

L'analyse de l'écologie des espèces repose pour une part importante sur le concept de profil écologique. Il consiste à ordonner une suite d'affinités d'une espèce (exprimée habituellement en fréquences d'occurrence) selon les magnitudes successives d'un descripteur écologique, découpé en classes (DAGET & GODRON, 1982). Différentes méthodes de calcul ont été développées, visant à mieux représenter ces affinités pour chacune des valeurs du descripteur. Les profils de fréquences corrigées permettent d'aboutir à une indépendance des résultats par rapport à l'abondance globale du taxon considéré. Cependant, afin de mieux analyser l'écologie des macrophytes selon le milieu physique, trois modifications ont été ici apportées.

Tout d'abord, ces profils corrigés sont sensibles à la disparité des effectifs échantillonnés par classe (DAGET & GODRON, 1982), et le rééquilibrage de ces effectifs n'est généralement pas compatible avec les données récoltées. BÉGUINOT (1995) a proposé une méthode permettant de réaliser des profils, appelés bi-invariants, qui sont alors indépendants de l'hétérogénéité des taux d'échantillonnage des différentes classes du descripteur écologique considéré. Elle consiste à rapporter la fréquence d'occurrence d'un taxon au sein d'une classe, non plus à sa fréquence moyenne dans l'ensemble de l'échantillon (calcul de l'affinité corrigée), mais à la moyenne arithmétique entre chacune de ses fréquences par classe (appelé ici affinité d'abondance ou d'occurrence selon le cas).

D'autre part, la prise en compte des abondances, en plus des seules fréquences d'occurrence, constitue un autre moyen pour cerner les affinités écologiques d'une espèce, et aboutit à élaborer des profils pondérés (DAGET & GODRON, 1982). Il est à noter cependant que cette modification ne permet plus le même traitement statistique des profils. L'extrapolation, proposée ici, de la méthode des profils bi-invariants à la prise en compte des abondances consiste, dans le même esprit, à rapporter l'abondance (exprimée en pourcentage moyen de recouvrement) du taxon considéré au sein d'une classe déterminée, à la moyenne arithmétique des abondances de ces taxons pour chacune des classes envisagées. Une comparaison de ces deux méthodes permettra de mieux évaluer l'apport de cette modification.

Enfin, il est souvent impossible d'isoler dans un jeu de données un seul facteur écologique pertinent, c'est fréquemment un groupe de variables qui évoluent conjointement. Le choix a alors été fait ici de synthétiser la variabilité des paramètres de l'habitat physique par une analyse en composantes principales. Les coordonnées factorielles des individus ont alors été utilisées pour réaliser une partition des individus au moyen d'une classification ascendante hiérarchique (C.A.H., agrégation selon le critère de Ward, ROUX, 1991). Ces techniques agglomératives sont préférées à celles procédant par division dans le cas où des classes naturelles sont pressenties dans l'échantillon (GAUCH & WHITTAKER, 1981).

Les facteurs chimiques présentent par contre nettement des variations continues et leur découpage en classes est plus délicat. Les liens entre végétation et facteurs chimiques seront donc analysés par recherche de corrélations.

RÉSULTATS

TYPOLOGIE DE L'HABITAT PHYSIQUE

L'analyse des caractéristiques de l'habitat physique a permis d'identifier les deux sources essentielles de variations, que sont le gradient longitudinal et le type d'écoulement de l'eau. L'examen des noeuds du dendrogramme (résultant de la C.A.H.) aboutit à distinguer cinq classes, qui intègrent au mieux ces deux facteurs (TAB. II).

Deux classes regroupent les stations de situation amont (bassin versant généralement inférieur à 50 km^2), l'une correspond à un écoulement lentique (notée

Source : MNHN

TABLEAU II.– Caractéristiques moyennes des 5 classes d'habitat physique (AmL : station amont à écoulement lentique, AmC : stations amont à écoulement lotique, Prd : stations profondes de l'aval, Rad : radiers et plats courants de l'aval, Rap : rapides de l'aval, % rec : pourcentage de recouvrement).
Mean characteristics of the 5 physical habitat classes (AmL: upstream stations with slow water flow, AmC: upstream stations with swift water flow, Prd: deep downstream stations, Rad: riffle downstream stations, Rap: rapid downstream stations, % rec : percentage of cover).

Caractéristiques	AmL	AmC	Prd	Rad	Rap
Nombre de stations	34	77	24	58	14
Largeur du lit (m)	1,7	2,5	12,2	8,4	13,1
Profondeur moyenne (cm)	30	33	99	44	56
Vitesse de flotaison moyenne (cm/sec.)	14	34	26	48	82
Végétation surplombant le lit (% rec.)	65	60	20	45	30
Type d'écoulement (% rec.)					
Laminaire	65	42	87	24	10
Friselis	26	55	13	64	69
Turbulent	3	3	0	11	21
Granulométrie (% rec.)					
Débris végétaux	36	9	8	6	4
Argiles et limons	39	11	17	6	3
Sables	16	44	41	19	20
Pierres et cailloux	5	21	7	15	8
Graviers	4	12	15	46	21
Blocs	1	2	12	7	28
Rochers	0	1	2	2	15

"AmL"), l'autre à un écoulement lotique ("AmC"). Les trois dernières classes d'aval distinguent les profonds ("Prd"), à écoulement largement laminaire, les radiers et plats courant ("Rad"), comportant un écoulement de type friselis important, et enfin les rapides ("Rap") présentant des turbulences.

La granulométrie du substrat est directement liée aux conditions d'écoulement caractérisant ces cinq classes. Les débris végétaux et limons sont bien sûr associés aux stations amont lentiques et, à l'autre extrême, les blocs et rochers aux rapides. Les sables dominent nettement dans les stations amont courantes et les profonds aval, les graviers sont plus fréquents dans les radiers.

ECOLOGIE DES MACROPHYTES SELON L'HABITAT PHYSIQUE

Les affinités respectives pour chacune des classes de milieu physique précédemment définies de 39 taxons (présents dans aux moins 4 % des relevés) est mise en évidence par des profils écologiques bi-invariants (FIG. 2). La tendance générale de la répartition des macrophytes se traduit par une large préférence pour les milieux aval et courants. Cependant des distinctions restent à faire selon les types de macrophytes distingués.

Les plantes émergées rencontrées dans le lit de la rivière sont les mieux représentées dans la classe des stations lentes de l'amont, mais pas totalement exclues des autres classes. Ces macrophytes colonisent principalement les pieds de berge, et une hauteur d'eau assez faible combinée à un écoulement relativement lent favorise leur développement. Malgré tout, celles ayant un caractère aquatique plus marqué peuvent présenter une distribution optimale décalée vers l'aval du réseau. C'est le cas de *Polygonum hydropiper* pouvant développer des formes totalement immergées, ainsi que d'*Oenanthe crocata* dont les formations (émergées) sont importantes dans de nombreux radiers.

La grande majorité des hydrophytes rencontrés présentent une distribution largement aval, la seule exception nette étant *Callitriche stagnalis*, se rapprochant des plantes de bordure. Une distinction apparaît entre les espèces des milieux lents (*Callitriche platycarpa*, *Lemna minor*, *Apium inundatum*, *Nuphar lutea*, *Myriophyllum alterniflorum*) et celles préférant les milieux plus rapides (*Callitriche obtusangula*, *Callitriche hamulata*, *Ranunculus penicillatus*, *Potamogeton alpinus*).

De même que les hydrophytes, les bryophytes et les macroalgues ont une distribution fortement aval. Notons tout de même le cas de *Scapania undulata* qui peut aussi se rencontrer dans les petits ruisseaux. Ces taxons semblent être cependant nettement rhéophiles; les radiers et rapides de l'aval, qui ont une granulométrie grossière, semblent leur fournir les meilleures conditions de courant et de substrat.

Il est important de pouvoir évaluer le degré de concordance des calculs d'affinités réalisés pour l'élaboration des

Source : MNHN

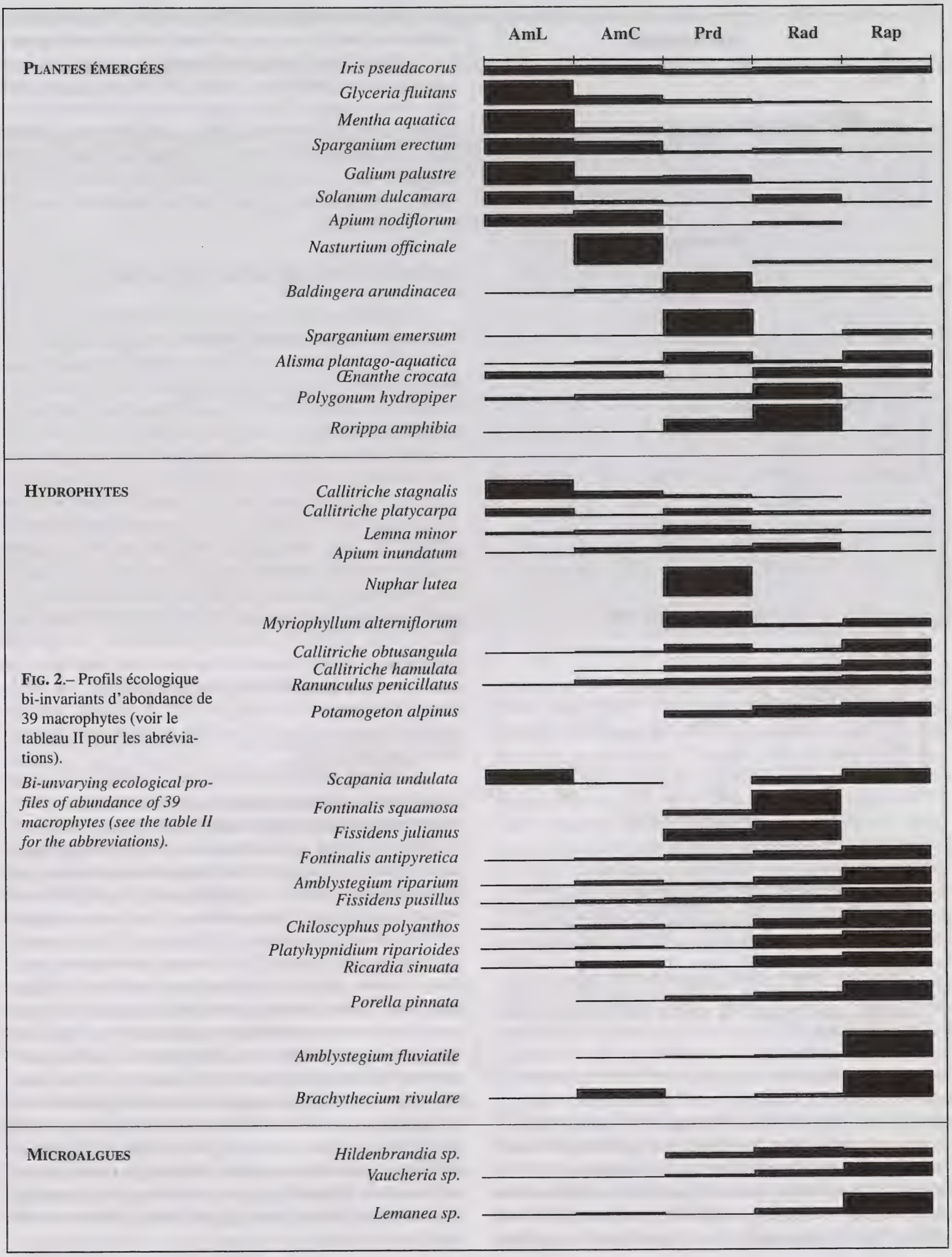


FIG. 2.– Profils écologique bi-invariants d'abondance de 39 macrophytes (voir le tableau II pour les abréviations).

Bi-unvarying ecological profiles of abundance of 39 macrophytes (see the table II for the abbreviations).

Source : MNHN

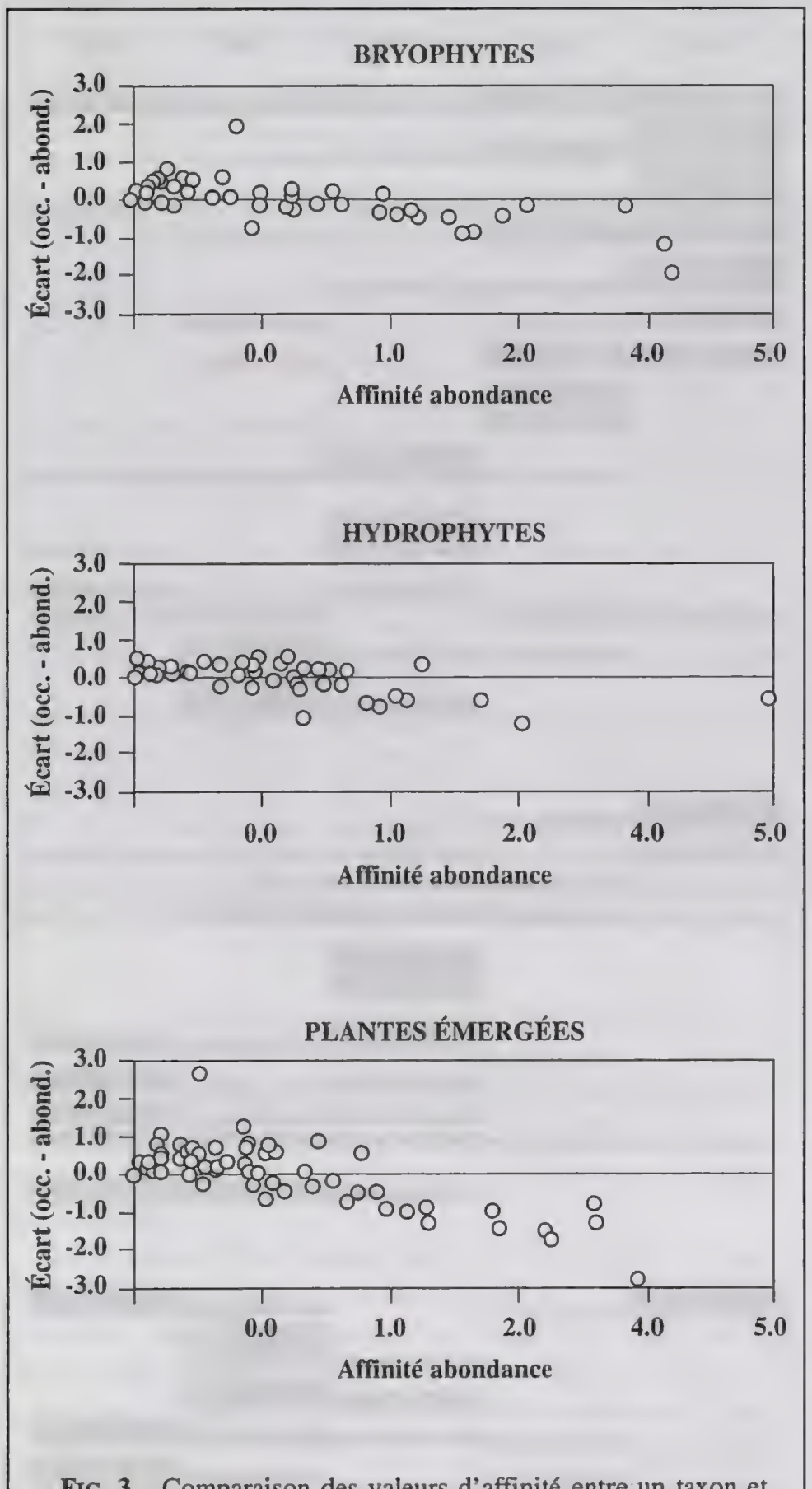


FIG. 3.– Comparaison des valeurs d'affinité entre un taxon et une classe de mésologie; ordination des écarts (différences entre les affinités d'occurrence et celles d'abondance) selon les affinités d'abondance croissantes.

Comparison between affinity value of a taxon and a mesological cluster; ordination of the differences between occurrence and abundance affinities, in relation with increasing abundance affinities.

profils écologiques bi-invariants, soit à partir des fréquences (calculs avec des données de présence/absence), soit à partir des abondances (calculs avec des recouvrements). L'écart entre ces deux estimateurs, représenté en fonction des valeurs croissantes de celui basé sur l'abondance (FIG. 3), ne semble pas correspondre à un phénomène purement aléatoire. Effectivement, des tendances contraires dans le sens de cet écart peuvent se dégager. Les faibles affinités sont globalement surestimées par une information en fréquences, alors que les plus fortes sont elles sous-estimées. Une même valeur d'affinité de fréquence peut donc correspondre à des affinités d'abondance très différentes. Cette caractéristique, relativement marquée pour les bryophytes, l'est en revanche très peu pour les hydrophytes, et par contre beaucoup plus pour les plantes émergées.

INFLUENCE DE PARAMÈTRES CHIMIQUES

Un travail au sein de classes homogènes vis-à-vis de l'habitat physique permet plus aisément de dégager les liens de la végétation avec les facteurs chimiques. Les coefficients de corrélation linéaire les plus significatifs reliant les recouvrements de macrophytes et la chimie de l'eau sont ainsi calculés au sein des deux classes d'habitat correspondant aux optimums de développement (profonds et rapides de l'aval du réseau, tableau III). Ceci montre la sensibilité de différentes espèces aux paramètres de la qualité de l'eau, et généralement, une préférence pour les milieux les plus minéralisés, en particulier vis-à-vis de l'ammonium et de la conductivité (*Fissidens julianus*, *Amblystegium riparium*, *Callitriche hamulata*, *Callitriche obtusangula*, *Callitriche platycarpa*). Ce sont principalement trois espèces (*Apium inundatum*, *Scapania undulata*, *Chiloscyphus polyanthos*) qui semblent au contraire affectionner des eaux peu chargées en nutriments. Cependant, il s'avère difficile d'attribuer précisément à chaque relation telle ou telle composante chimique de la qualité de l'eau.

C'est dans la classe des rapides où, malgré un nombre relativement faible de stations, le plus de relations statistiquement significatives sont apparues, en particulier vis-à-vis des teneurs en ammonium. Ce type d'habitat correspond effectivement à un développement maximum pour de nombreuses espèces. Il apparaît ainsi une relation nette et croissante entre l'abondance de certaines espèces (*Callitriche hamulata, Callitriche obtusangula, Amblystegium riparium*) et la teneur en ammonium de l'eau, quelle que soit la campagne d'analyse chimique (FIG. 4). D'autres espèces semblent par contre régresser avec des teneurs croissantes en ammonium : c'est le cas de *Chiloscyphus polyanthos*. Des modèles de régression peuvent facilement être ajustés et montrent la non linéarité de la relation. Ces graphes permettent également de prendre en compte les variations temporelles de la chimie de l'eau. Les variations entre les campagnes d'analyse chimique s'expliquent principalement par des niveaux différents de contamination ammoniacale, liés aux activités des principales sources de pollution (fonctionnement des pisciculture).

Source : MNHN

TABLEAU III.– Coefficients de corrélation linéaire entre quelques espèces et des variables physico-chimiques (** : $p < 0,05$; * : $0,05 < p < 0,1$; case vide : non significatif).

*Linear correlation coefficients between some species and physico-chemical parameters (** : $p < 0,05$; * : $0,05 < p < 0,1$; empty case: not significative).*

Classe de stations	Espèces	Date	Conductivité	NO_3	NH_4	PO_4
PROFONDS	*Fissidens julianus*	7/93			0,51**	
		7/94			0,29	0,53**
	Apium inundatum	1/93				-0,44**
		7/93	-0,36**	-0,46**	-0,32*	-0,49**
		7/94	-0,53**	-0,57**		
RAPIDES	*Scapania undulata*	1/93	-0,86**	-0,86**	-0,56*	
		7/93	-0,83**	-0,63**		
		7/94	-0,89**	-0,80**		-0,53**
	Amblystegium riparium	1/93			0,72**	
		7/93		0,44*	0,95**	
		7/94			0,89**	
	Chiloscyphus polyanthos	1/93	-0,63**	-0,58**	-0,67**	
		7/93	-0,64**	-0,44*	-0,69**	-0,53**
		7/94	-0,58**	-0,64**	-0,59**	-0,60**
	Callitriche hamulata	1/93		0,41*	0,73**	
		7/93	0,45*	0,50**	0,83**	
		7/94			0,80**	
	Callitriche obtusangula	1/93	0,44*	0,50*	0,76**	
		7/93	0,49*	0,50*	0,91**	0,43*
		7/94	0,43*	0,42*	0,82*	0,50*
	Callitriche platycarpa	1/93	0,46*		0,50**	
		7/93	0,47*	0,60**		
		7/94	0,42*	0,64**	0,44*	

DISCUSSION ET CONCLUSION

FACTEURS ESSENTIELS DÉTERMINANT LA DISTRIBUTION DE LA VÉGÉTATION MACROPHYTIQUE

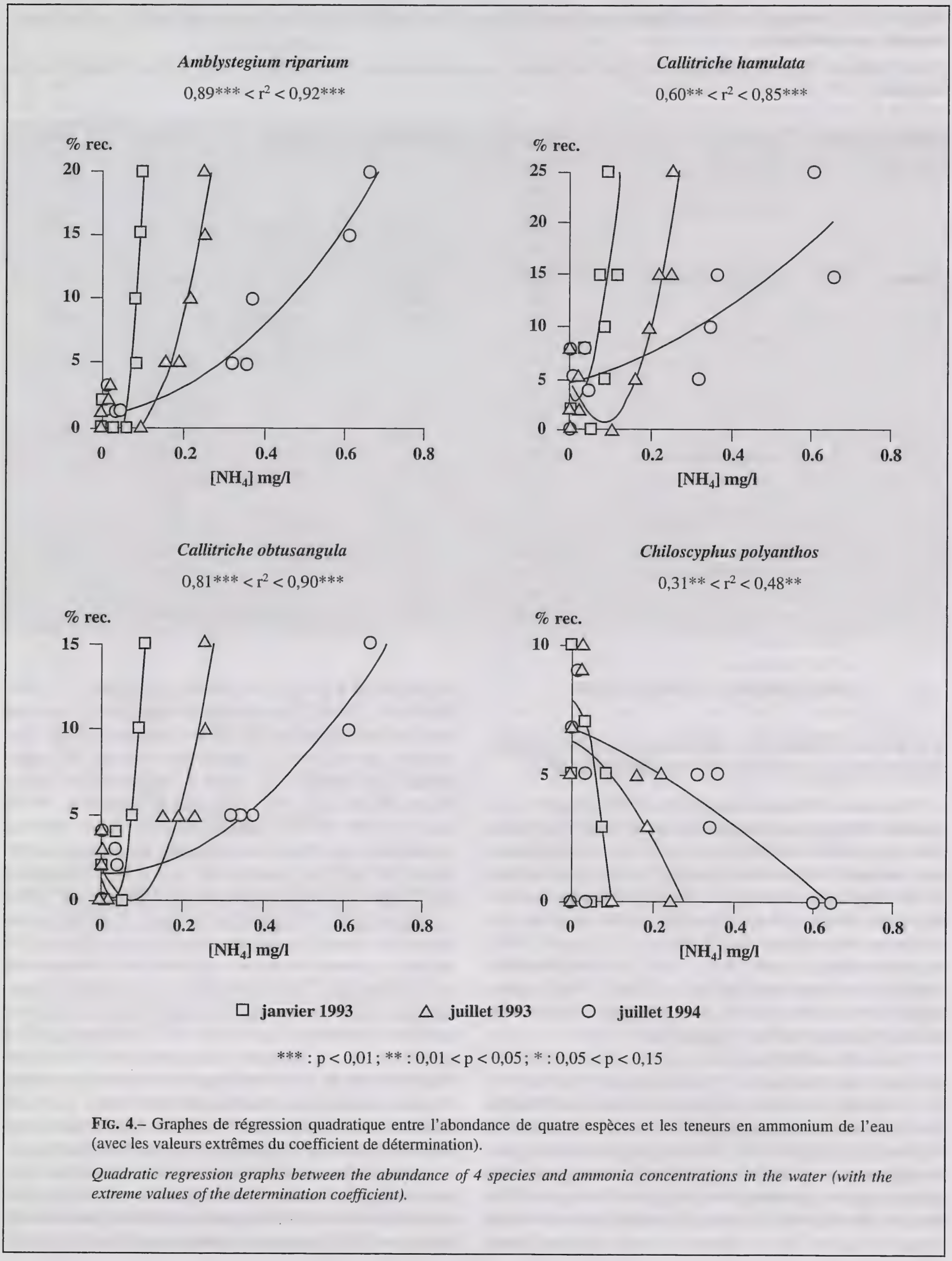
Ce travail montre nettement une hiérarchisation des facteurs écologiques pouvant expliquer la distribution des macrophytes dans les rivières armoricaines. L'importance des variables de l'habitat physique dans le déterminisme de la végétation aquatiques, notée dès les travaux de BUTCHER (1933), s'avère rarement intégré dans les systèmes de bioindication (NEWBOLD & HOLMES 1987, ANONYME 1987, HAURY *et al.,* 1995). La seule tentative dans ce sens étant celle d'HASLAM (1982, 1987) faisant appel à l'identification de phytocénoses de référence, méthode qui reste délicate d'application.

La zonation longitudinale du cours d'eau est un facteur très important de son fonctionnement (VANNOTE *et al.,* 1980) et a bien sûr des répercussions sur la distribution des phytocénoses aquatiques (FERNANDEZ-ALAEZ & FERNANDEZ-ALAEZ, 1994). Hormis quelques taxons (pour la plupart non strictement aquatiques), une augmentation globale des recouvrements végétaux vers l'aval du cours d'eau a été observée. Cependant, aucune suite de dominance d'espèces n'est apparue le long de ce gradient, contrairement à ce qui peut exister pour d'autres rivières (WIEGLEB, 1984). Une particularité de cette zonation consiste dans la distribution des bryophytes qui sont couramment rencontrées à l'amont des réseaux hydrographiques, et distincts des zones à angiospermes hydrophytes (WESTLAKE, 1975, HOLMES & WHITTON, 1977). Ceci peut être dû aux caractéristiques de ces rivières armoricaines qui restent très courantes jusque dans la partie aval de leur cours continental ; ceci a déjà été observé sur le Trieux, une autre rivière armoricaine (HAURY, 1989).

D'autre part, l'écoulement de l'eau est tout de même un facteur caractéristique essentiel de ces milieux et ses variations peuvent fortement influencer le développement des macrophytes. Une vitesse élevée de courant est généralement considérée comme pouvant limiter le développement de la végétation (LEJMBACH, 1977). NILSSON (1987) a également mis en relation l'augmentation de la vitesse d'écoulement de l'eau avec une diminution du nombre d'espèces aquatiques. Dans la présente étude, c'est une tendance inverse qui apparaît, pour des valeurs de vitesse de courant pourtant comparables à celles de ces auteurs.

L'abondance de la végétation peut enfin s'avérer fortement liée à la lumière (CANFIELD & HOYER, 1988). Mais ce paramètre est en fait délicat à quantifier et peut être très dépendant de la végétation rivulaire surplombant la rivière

Source : MNHN



*** : $p < 0,01$; ** : $0,01 < p < 0,05$; * : $0,05 < p < 0,15$

FIG. 4.– Graphes de régression quadratique entre l'abondance de quatre espèces et les teneurs en ammonium de l'eau (avec les valeurs extrêmes du coefficient de détermination).

Quadratic regression graphs between the abundance of 4 species and ammonia concentrations in the water (with the extreme values of the determination coefficient).

Source : MNHN

(MADSEN & ADAMS, 1989). Le boisement du Scorff étant assez important il n'est pas possible de comparer des situations distinctes sur ce critère, qui reste finalement en relation avec la largeur de la rivière.

C'est en comparant des milieux globalement homogènes pour ces variables de l'habitat que des relations à la chimie de l'eau peuvent apparaître. Ceci permet de s'affranchir d'une première variabilité due au milieu physique. Parmi les bryophytes, *Amblystegium riparium* et *Fissidens julianus* sont apparus associés aux milieux fortement minéralisés (en particulier vis-à-vis de l'ammonium). Ceci a déjà été constaté, pour la première espèce, par différents auteurs (ANONYME, 1987 ; HAURY, 1985 ; NEWBOLD & HOLMES, 1987). *Scapania undulata* semble moins abondante dans les secteurs fortement minéralisés, comme l'ont déjà observé HAURY (1985), HAURY & MULLER (1991), GRASMUCK et al. (1995), mais une autre hépatique à feuilles, *Chiloscyphus polyanthos* nous apparaît également particulièrement sensible. Les quatre espèces de Callitriches rencontrées semblent toutes affectionner les eaux minéralisées, ce qui a déjà été signalé par différents auteurs pour quelques espèces séparément (principalement *Callitriche obtusangula*, HAURY, 1990 ; BOUXIN, 1991, TRÉMOLIERES *et al.*, 1994), alors que d'autres les associent à des milieux oligotrophes (HASLAM, 1978, CAFFREY, 1985). Il est possible que l'échelle de pollution considérée ne soit pas la même, mais ces deux derniers auteurs ne la précisent pas.

MISE EN ÉVIDENCE DES RELATIONS DES MACROPHYTES À LEUR ENVIRONNEMENT

La mise en place d'un système de bioindication à partir des macrophytes nécessite de bonnes connaissances de leur écologie, et passe obligatoirement par des observations de terrain pour garantir une pertinence écologique. Cependant ce type d'informations peut s'avérer d'interprétation délicate et différents problèmes sont rencontrés. Un premier problème consiste en une multicolinéarité des variables environnementales (WIEGLEB, 1984 ; COETZEE & ROGERS, 1991), empêchant la mise en relation d'un facteur précis avec la végétation ; de nombreuses corrélations coexistent, de sorte que l'interprétation écologique de chacune des variables individuellement s'avère en fait délicate.

La multicolinéarité résulte tout d'abord de liens intrinsèques entre les composantes du milieu : les phénomènes de sédimentation (et donc la granulométrie) sont directement reliés à la vitesse du courant. La disponibilité des nutriments interfère également avec chacun de ces paramètres (WESTLAKE, 1967 ; BOEGER, 1992). Une autre source de covariations est liée aux particularités que présentent la région elle-même. Les résultats apparaissent en effets relatifs à une aire géographique donnée, les bassins versants se comportant comme des "îles" (WIEGLEB 1984). Les résultats de différents auteurs sont pour cette raison parfois peu comparables. Seules des expérimentations en milieu contrôlé permettraient de dégager la part relative de ces différents facteurs.

La difficulté de mettre en relation des informations d'origines différentes apparaît déjà dès leur collecte. Des causes de disparité existent en effet, y compris au sein d'une même région d'étude : variabilité temporelle de la chimie, variabilité spatiale des caractéristiques physiques de la rivière, dont seules les moyennes à l'échelle de la station sont considérées, dynamique saisonnière de la végétation. La classification multivariée établie précédemment s'avère bien adaptée à ce type de données. La recherche de liens entre végétation et chimie de l'eau au travers de cette typologie de l'habitat physique occulte cependant le gradient longitudinal d'eutrophisation. Cette nécessité de sélectionner des habitats physiquement homogènes pour pouvoir révéler des liens importants à la chimie de l'eau n'apparaît pas dans d'autres rivières de l'Est de la France (TRÉMOLIERES *et al.*, 1994) ; c'est alors la nature du substrat géologique qui devient un facteur déterminant. Un découpage en classe des variables chimiques est réalisable (GRASMUCK, 1994), mais traduit en fait principalement les variations de substrat géologique. Une telle typologie devient par contre beaucoup plus délicate pour retranscrire des pollutions (gradient de trophie, ou récupération après une pollution ponctuelle) et présente alors une signification plus faible à cet égard.

L'évaluation de l'abondance pose également des difficultés. L'estimation visuelle des pourcentages de recouvrement reste une technique non destructive couramment utilisée (EVERITT & BURKHOLDER, 1991 ; FERNANDEZ-ALAEZ & FERNANDEZ-ALAEZ, 1994). Elle s'avère fiable et reproductible, pratiquée par un même observateur, mais des méthodes plus standardisées seraient à développer. La prise en compte de l'abondance ne s'est pas avérée essentielle pour les hydrophytes (Fig. 3). KURIMO & KURIMO (1981) estiment également que la seule présence de quelques espèces indicatrices peut suffire à évaluer des tendances par rapport à la qualité de l'eau.

Cependant, les discordances relevées montrent que présence/absence et abondance offrent des appréciations du contexte écologique plus ou moins distinctes, conséquences mêmes de chacune de ces deux approches. Ceci est notamment observé dans le cas des plantes émergées pouvant être rencontrées dans des niches marginales (comme le bord du lit de la rivière) ou accidentelles (liées à des dispersions longitudinales, ou latérales, par les abords de la rivière), et également dans celui des bryophytes, fréquemment inventoriées avec des taux de recouvrement très faibles (inférieurs à 5 %). Ainsi, on peut reprocher aux présence/absence de ne pas faire de distinctions entre ces occupations à faibles recouvrements et des colonisations plus massives au plein coeur du domaine

Source : MNHN

écologique des espèces correspondantes. *A contrario*, on pourra opposer aux recouvrements de rendre compte non seulement de l'écologie mais aussi de facteurs contingents, notamment saisonniers, comme l'implantation précoce, ou au contraire tardive, vis-à-vis du cortège concurrentiel, qui peut notablement moduler les recouvrements à écologie constante. Les deux approches sont donc plus complémentaires qu'exclusives ; cependant, l'abondance, porteuse d'une information de terrain paraissant plus complète, et dont l'intérêt dans la bioindication a déjà été observé (DANIEL & HAURY, 1996), semble à privilégier.

En conclusion, l'interférence entre variables physiques de l'habitat et paramètres physico-chimiques des eaux du Scorff nécessite un traitement séparé des deux catégories de facteurs, dans leurs relations avec la végétation : une analyse préalable des profils écologiques bi-invariants se révèle efficace pour aborder l'influence des variables de l'habitat physique. Au sein de ces classes d'habitat physique assurant un développement végétal optimal (valeurs maximales de profils), une analyse par corrélations multiples permet ensuite de dégager les principales tendances reliant végétation et paramètres physico-chimiques de l'eau. Alors seulement dispose-t-on des éléments indispensables pour fonder un système de bioindication pour le territoire considéré, susceptible de rendre compte, à partir de la végétation, d'évolutions éventuelles de la qualité physico-chimique des eaux. Cependant, il reste encore d'une part à formaliser ces relations de manière simple et utilisable, et d'autre part à en éprouver alors la fiabilité sur d'autres rivières analogues.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'agence de l'eau Loire Bretagne pour son aide financière, N. JEANNOT, J. LE BARS, E. BROSSEAU et G. LAMMERTYN pour leur participation à la collecte des données, I. BERNEZ et S. COIFFARD pour la relecture du manuscrit, Jane HALL pour les corrections de la version abrégée de l'article, ainsi que les lecteurs anonymes pour leurs remarques constructives.

BIBLIOGRAPHIE

ANONYME (Standing Committee of Analysts H.M.S.O., HASLAM S.M., HOLMES, N.T.H. & HARDING, J.P.C.), 1987.– *Methods for the use of aquatic macrophytes for assessing water quality.* Her Majestys's Stationery Office, London : 176 p.

BARRAT-SEGRETAIN, M.H. & AMOROS, C., 1995.– Influence of flood timing on the recovery of macrophytes in a former river channel. *Hydrobiologia*, 316 : 91-101.

BEGUINOT, J., 1995.– Nouvelle formulation pour les profils écologiques : le profil bi-invariant. *Ecologie*, 26 : 41-44.

BOEGER, R.T., 1992.– The influence of substratum and water velocity on growth of *Ranunculus aquatilis* L. (Ranunculaceae). *Aquat. Bot.*, 42 : 351-359.

BOUXIN, G., 1991.– La végétation aquatique et du bord de l'eau dans le bassin versant du Bocq (Condroz, Belgique). *Rev. Sci. Eau*, 4 : 185-210.

BUTCHER, R.W., 1933.– Studies on the ecology of rivers I. On the distribution of macrophytic vegetation in the rivers of Britain. *J. Ecol.*, 21 : 58-91.

CAFFREY, J., 1985.– A scheme for the assessment of water quality using aquatic macrophytes as indicators. *J. Life Sci. R. Dubl. Soc.*, 5 : 105-111.

CANFIELD, D.E.JR. & HOYER, M.V., 1988.– Influence of nutrient enrichment and light availability on the abundance of aquatic macrophytes in Florida streams. *Can. J. Fisheries. Aquat. Sci.*, 45 : 1467-1472.

COETZEE, M.A.S. & ROGERS, K.H., 1991.– Environmental correlates of plant species distribution on the Nyl River floodplain. *Sth. Afr. J. aquat. Sci.*, 17 : 44-50.

DANIEL, H., 1993.– *Relations entre les macrophytes et la qualité des cours d'eau.* Mém. DEA Sci. Tech. Environ. Univ Paris XII, ENPC, ENGREF : 40 p.

DANIEL, H. & HAURY, J., 1995.– Effects of fish farm pollution on phytocenoses in an acidic river (the River Scorff, South Brittany, France). *Acta bot. Gallica*, 142 : 639-650.

DANIEL, H. & HAURY, J., 1996.– Les macrophytes aquatiques : une métrique de l'environnement en rivière. *Cybium*, 20 (3) suppl. : 123-136.

DAGET, P. & GODRON, M., 1982.– *Analyse de l'écologie des espèces dans les communautées.* Masson, Paris : 159 p.

DEN HARTOG, C., VAN DER VELDE, G., 1988.– Structural aspects of aquatic plant communities. *In* J.J. Symoens J.J. (Ed), *Vegetation of Inland Waters*. Kluwers Ac. Publ. Dordrecht : 113-153.

EVERITT, D.T. & BURKHOLDER, J.M., 1991.– Seasonal dynamics of macrophyte communities from a stream flowing over granite flatrock in North Carolina, USA. *Hydrobiologia*, 222 : 159-172.

FERNANDEZ-ALAEZ, C. & FERNANDEZ-ALAEZ, M., 1994.– The macrophyte communities of the Sil basin (NW Spain) and their relationship with the environmental variables. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 25 : 1709-1715.

GAUCH, H.G.Jr & WHITTAKER, R.H., 1981.– Hierarchical classification of community data. *J. Ecol.* 69 : 537-557.

GRASMUCK, N., 1994.– *Les végétaux aquatiques des cours d'eau de Lorraine : typologies floristiques et et écologiques - Contribution à l'étude de l'autoécologie des espèces de la flore aquatique lorraine*. Thèse Doct. Ecologie Univ. Metz, 2 vol. : 240 p et 220 p.

GRASMUCK, N., HAURY, J., LEGLIZE, L. & MULLER, S., 1995.– Assessment of the bio-indicator capacity of aquatic macrophytes using multivariate analysis. *Hydrobiologia*, 300/301 : 115-122.

HASLAM, S.M., 1978.– *River plant.* Cambridge University Press, Cambridge : 396 p.

HASLAM, S.M., 1982.– A proposed method for monitoring river pollution using macrophytes. *Envir. Technol. Lett.*, 3 : 19-34.

HASLAM, S.M., 1987.– *River plants of western Europe*. Cambridge University Press, Cambridge : 512 p.

HAURY, J., 1985.– *Etude écologique des macrophytes du Scorff (Bretagne-Sud).* Thèse Doc-Ing, Univ. Rennes I : 196 p.

HAURY, J., 1989.– Macrophytes du Trieux (Bretagne-Nord) : II - Analyse des relations espèces-milieu physique par la méthode des profils écologiques. *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest de la France*, 11 : 193-207.

HAURY, 1990 - Macrophytes du Trieux (Bretagne-Nord) : III - Relations macrophytes-qualités des eaux. *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest de la France*, 12 : 141-154.

HAURY J. & MULLER, S., 1991.– Variations écologiques et choro-

Source : MNHN

logiques de la végétation macrophytique des rivières acides du Massif armoricain et des Vosges du Nord (France). *Rev. Sci. Eau*, 4 : 463-482.

HAURY, J., PELTRE, M.C., MULLER, S., TREMOLIERES, M., BARBE, J., DUTARTRE, A. & GUERLESQUIN, M., 1995.– Des indices macrophytes pour estimer la qualité des cours d'eau : premières propositions du groupement d'intérêt scientifique "Macrophytes des eaux continentales". *Annales du colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" ANPP*, Chinon 21 au 21 septembre 1995 : 243-253.

HOLMES, N.T.H. & WHITTON, B.A., 1977.– Macrophytic vegetation of the River Swale, Yorkshire. *Freshwat. Biol.*, 7 : 545-558.

KURIMO, H. & KURIMO, U., 1981.– Distributional relations and homogeneous areas in aquatic macrophyte vegetation: a case study. *Ann. Bot. Fennici*, 18 : 293-312.

LEJMBACH, B., 1977.– The influence of flowing water velocity on the structure of underwater phytocenosis. *Fragm. Florist. Geobot.*, 22 : 355-362.

MADSEN, J.D. & ADAMS, M.S., 1989.– The distribution of submerged aquatic macrophyte biomass in a eutrophic stream, Baldfish Creek: the effect of environment. *Hydrobiologia*, 171 : 111-119.

MULLER S., 1990.– Une séquence de groupements végétaux bioindicateurs d'eutrophisation croissante des cours d'eau faiblement minéralisés des Basses Vosges gréseuses du Nord. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 310 : 509-514.

NEWBOLD, C. & HOLMES, N.T.H., 1987.– Nature conservation: water quality criteria and plants as water quality monitors. *Water Pollut. Control*, 86 : 345-364.

NILSSON, C., 1987.– Distribution of stream-edge vegetation along a gradient of current velocity. *J. Ecol.*, 75 : 513-522.

ROUX, M., 1991.– Basic procedures in hierarchical cluster analysis. In : J. Devillers & W. Karcher (eds), *Applied Multivariate Analysis in SAR and Environmental Studies*, Bruxel : 115-135.

SMITH, A.J.E., 1978.– *The moss flora of Britain and Ireland.* Cambridge University Press, Cambridge : 706 p.

SMITH, A.J.E., 1990.– *The liverworts of Britain and Ireland.* Cambridge University Press, Cambridge: 362 p.

TREMOLIERES, M., CARBIENER, R., ORTSCHEIT, A. & KLEIN, J.P., 1994.– Changes in aquatic vegetation in Rhine floodplain streams in Alsace in relation to disturbance. *J. Veg. Sci.*, 5 : 169-178.

TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGES, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & WEBB, D.H.(eds). 1964-1980. *Flora Europea*. 5 Vol. Cambridge University Press, Cambridge.

VANNOTE, R.L., MINSHALL, G.W., CUMMINS, K.W., SEDELL, J.R. & CUSHING, C.E., 1980.– The river continuum concept. *Can. J. Fisheries. Aquat. Sci.*, 37 : 130-137.

WESTLAKE, D.F., 1967.– Some effects of low velocity currents on the metabolism of aquatic macrophytes. *J. Exp. Bot.*, 18 : 187-205.

WESTLAKE, D.F., 1975.– Macrophytes. *In* : Whitton B.A. (ed), *River Ecology, Studies in Ecology 2*, Blackwell Scientific Publications, Oxford : 106-128.

WIEGLEB, G., 1984.– A study of habitat conditions of the macrophytic vegetation in selected river systems in western lower saxony (Federal Republic of Germany). *Aquat. Bot.*, 18 : 313-352.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

The macrophytic vegetation of rivers can indicate environmental characteristics (HASLAM, 1978; Trémolières *et al.*, 1994...), and several bioindication systems have already been proposed (HASLAM, 1987; NEWBOLD & HOLMES, 1987; ANONYME, 1987; HAURY *et al.*, 1995). However, few are based on measurements but simply on observations (WIEGLEB, 1984). It is necessary to collect and organize quantitative information on the macrophytic vegetation. The study is based on field work on the River Scorff and its tributaries, a slighty acidic river system in Southern Brittany, where 207 stations were sampled. A station is defined as a fifty meter long section of stream, as homogeneous as possible. The floral relevé was done for each station with an estimation of cover for each taxon. Mesological data included physical parameters of the station (depth, width, size of substrata, water velocity and light) as well as chemical parameters (pH, conductivity, and main nutrients) measured by spectrophotometry over 3 surveys. An agglomerative hierarchical classification allowed a physical typology of the stations. The five resulting clusters were as follows: two upstream types ("AmC" - with swift water flow and "AmL" - with slow water flow) and three dowstream types ("Prd" - the deep stations, "Rad" - the riffle stations, and "Rap" - the rapid stations). This typology is ecologically significant (TAB. I) but clusters are represented by fairly different numbers of sampled stations. For this reason, we used the bi-unvarying profiles (BÉGUINOT, 1995) which made representation and quantification of the ecological distribution of 39 macrophytes possible along this heterogeneously sampled physical typology (FIG. 2). The profiles were calculated from occurence data, also taking into account the vegetation cover (FIG. 3). This was important for emerged plants and bryophytes which are often encountered with very little cover. The emerged plants mainly developed in the upstream stations. The other macrophytes presented a largely downstream distribution. Two exceptions were noted: *Callitriche stagnalis* and *Scapania undulata*, mainly encountered in the upstream part of the river. Several species occurred in abundance in slow flowing stations (*Callitriche platycarpa*, *Lemna minor*, *Apium inundatum*, *Nuphar lutea*, *Myriophyllum alterniflorum*) and the others (including bryophytes and macroalgae) in the swift flowing stations. No real zonation was observed in contrast to other rivers (WIEGLEB, 1984). The largely downstream distribution of the bryophytes is also observed in other Armorican rivers (HAURY, 1989). The fast water flow is often believed to limit the development and diversity of vegetation (LEJMBACH, 1977; NILSSON, 1987); we observed the opposite.

By selecting the clusters corresponding to the optimum development of each species, it is possible to observe strong relationships between their respective surface covers and the chemical parameters of water quality (TAB. II and FIG. 4). Ammonia was the most frequent parameter involved, but accurate causal relationships were difficult to establish because of the importance of other variables (conductivity, nitrates, phosphates). Species associated with mineralized water stations were identified (*Fissidens julianus*, *Amblystegium riparium*, *Callitriche hamulata*, *Callitriche obtusangula*, *Callitriche platycarpa*), whereas other species appeared to avoid these environmental factors (*Apium inundatum*, *Scapania undulata*, *Chiloscyphus polyanthos*). *Chiloscyphus polyanthos'* sensitivity had not been described previously. The case of the Callitriche is not simple: several studies agree with our results (HAURY, 1990; BOUXIN, 1991; TRÉMOLIERES *et al.*, 1994) whereas others consider that these species are associated with oligotrophic stations (HASLAM, 1978; CAFFREY, 1985).

Source : MNHN

The main problem about the interpretation of the field data is the multicolinearity which stands between some of the environmental variables. This makes it difficult to assess directly the specific role of each of these variables on the vegetation. Accordingly, it seems that the role of water chemistry on the distribution of vegetation may be correctly assessed only if homogeneous (and optimal) physical conditions are previously selected. Quantitative approach is thus necessary. In particular, bi-unvarying ecological profiles have proved efficient in this respect, as they cancel the bias resulting from numerically heterogeneous ecological classes. Furthermore, abundance provided more precise information than occurrence data only, considering emerged plants and bryophytes. This ecological knowledge is the first step in order to develop a bioindication system which may be used in this region. It is now necessary to adapt these relationships in a simple way and to test them in other Armorican rivers.

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 257-261

TENTATIVE D'UTILISATION DE *DREISSENA POLYMORPHA* COMME BIOINDICATEUR DE POLLUTION VIRALE DES EFFLUENTS DE STATION D'ÉPURATION*

Jérôme BARON[1], Jacques LESAVRE[2] & Louis SCHWARTZBROD[3]

[1]*Anjou Recherche - Compagnie Générale des Eaux chemin de la Digue, 78600 Maisons-Laffitte, France.*
[2]*Agence de l'Eau Seine-Normandie rue S. Allende, 92027 Nanterre Cedex, France.*
[3]*Laboratoire de Virologie - Faculté de Pharmacie rue A. Lebrun - 54000 Nancy, France.*

SUMMARY
(original scientific paper)

ATTEMPTS TO USE DREISSENA POLYMORPHA *AS A BIOINDICATOR OF VIRAL POLLUTION IN SEWAGE TREATMENT PLANT EFFLUENTS*

In this original study, we tried to use the bivalve Dreissena polymorpha *to concentrate pathogenic viruses present in sewage treatment effluents before analysis. Four sets of molluscs were left 2 to 9 days in a secondary effluent of a wastewater treatment plant in Seine-Maritime (France). Enterovirus and somatic coliphages analyses were performed on tissue and on the effluent waters. In all sets of bivalves, enterovirus counts were negative after inoculation on BGM cells. After inoculation on VERO cells, the 3-day set was positive with 22 PFU/100 g of fresh tissue. For the coliphages, concentrations of 280 and 200 PFU/100 g of fresh tissue were measured for the 5 -day and 3-day sets respectively. Analyses of the effluent waters showed low enterovirus concentrations, between 0 and 5 PFU/5 l, while phages concentrations were more important, from 46 to 230 PFU/ml. It cannot be concluded from this preliminary study that* D. polymorpha *can be used as a bioindicator of viral pollution in sewage treatment plant effluents.*

KEY WORDS : Animal bioindicator - *Dreissena polymorpha* - Secondary effluent - Virus.

RÉSUMÉ
(travail original)

Dans cette étude originale, nous avons tenté d'utiliser le bivalve Dreissena polymorpha *pour concentrer les virus pathogènes des eaux usées épurées avant analyse. Quatre lots de mollusques ont été incubés respectivement 2, 3, 5 et 9 jours dans un effluent secondaire sur une station d'épuration de Seine-Maritime. Des analyses d'entérovirus et de coliphages somatiques ont été réalisées sur les chairs et les effluents. Pour tous les lots de bivalves, les recherches d'entérovirus ont été négatives après inoculation sur cellules BGM. Après inoculation sur cellules VERO, le lot 3 jours a été positif avec 22 Unités Formant Plage (UFP)/100 g de tissu frais. Pour les coliphages, des concentrations de 280 et 200 UFP/100 g de tissu frais ont été dénombrées respectivement pour les lots restés 5 et 3 jours dans l'effluent. Les concentrations en entérovirus des effluents ont été faibles, entre 0 et 5 UFP/5 l, les concentrations en bactériophages étant en revanche plus conséquentes, de 46 à 230 UFP/ml. Cette étude préliminaire n'a pas permis de conclure quant à la possibilité d'utiliser* D. polymorpha *comme bioindicateur de la pollution virale des effluents de stations d'épuration.*

MOTS CLÉS : Bioindicateur animal - *Dreissena polymorpha* - Effluent secondaire - Virus.

INTRODUCTION

Les eaux usées épurées issues des stations d'épuration véhiculent de nombreux micro-organismes dont certains sont pathogènes pour l'homme. Parmi ceux-ci, les virus entériques (en particulier le virus de l'Hépatite A et les virus responsables des gastro-entérites) sont à l'origine d'un réel risque sanitaire lorsque les effluents sont rejetés à proximité de zones d'élevage conchylicole ou de pêche à pied (WEST & COLEMAN, 1986 ; RICHARDS, 1987 ; GAILLOT *et al.*, 1988). En effet, les virus peuvent être filtrés par les mollusques, se concentrer dans leurs chairs et les rendre ainsi potentiellement dangereux (SCHWARTZBROD, 1991). Ces virus sont présents dans les effluents épurés à des concentrations faibles et variables, et les analyses sont complexes et onéreuses (HAVELLAR *et al.*, 1993). Les recherches quantitatives de virus pathogènes dans les effluents ne sont donc que rarement effectuées et il est difficile de contrôler, par des analyses amont - aval, les performances réelles des systèmes de désinfection mis en

* Manuscrit reçu le 19 janvier 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 19 juin 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

place sur les stations d'épuration pour détruire la pollution microbiologique.

L'objectif de notre recherche a été de mettre au point une méthode "*in vivo*" de concentration des virus indigènes des effluents de station d'épuration, méthode qui permettrait par la suite d'estimer les performances d'un traitement de désinfection vis-à-vis des virus. L'organisme choisi a été *Dreissena polymorpha* (la moule zébrée), un bivalve abondant dans divers lacs et cours d'eau européens et nord-américains (MACKIE & WRIGHT, 1994). Dans certaines régions, ce mollusque cause de nombreux problèmes, colmatant les systèmes d'irrigation, les prises d'eau de surface et d'eau industrielle et constituant même un sérieux danger pour certaines pêcheries commerciales et récréatives. *D. polymorpha* est aujourd'hui couramment utilisé en rivière comme bioaccumulateur de pollution métallique (MERSCH & JOHANSSON, 1993), et certaines recherches visent par ailleurs à l'employer au sein d'usines de production d'eau potable comme détecteur d'une éventuelle pollution de la ressource (MOUABAD & PIHAN, 1993).

Cette étude présente donc une tentative d'utilisation de *D. polymorpha* comme bioindicateur de la pollution virale des eaux usées épurées. Des lots de moules ont pour cela été placés durant des temps variables dans un effluent issu d'une station d'épuration du littoral de Seine-Maritime dont le rejet s'effectue en mer à proximité d'un important gisement naturel de coquillages. Des analyses d'entérovirus et de bactériophages d'*Escherichia coli* (coliphages somatiques) ont ensuite été réalisées sur les chairs de moules et les effluents.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

PRÉPARATION DES ANIMAUX AVANT TRANSFERT SUR SITE

Les essais ont été menés en avril et mai 1994. Les individus de *D. polymorpha*, d'une taille de 20 à 25 mm, ont été fournis par le Laboratoire d'Écologie de l'Université de Metz. A l'arrivée au Centre de Recherche de la Compagnie Générale des Eaux, à Maisons-Laffitte, ils ont été séparés en 4 lots d'une centaine d'individus puis conservés en bac alimenté en continu par un mélange eau de Seine - eau de réseau. Avant le transfert sur la station d'épuration, chaque lot a été placé durant 48 heures dans un bac de décontamination alimenté en continu par de l'eau de réseau préalablement déchlorée et désinfectée aux UV.

INCUBATIONS DANS L'EFFLUENT ÉPURÉ

Les incubations ont été réalisées sur la station d'épuration de Criel-sur-Mer (Seine-Maritime), dont l'exploitant est la Compagnie Fermière de Services Publics. Sur le site, l'épuration est assurée par des boues activées faible charge avec zone d'anoxie pour la dénitrification. Les 4 lots de moules ont été incubés dans l'effluent épuré respectivement 9, 5, 3 et 2 j. Le système d'incubation utilisé était constitué d'un bac répartiteur de débit recevant l'effluent pompé dans le canal de sortie de la station, à partir duquel étaient alimentés exactement au même débit (100 l/h environ) plusieurs compartiments indépendants. Dans chaque compartiment, les moules étaient positionnées sur un plancher à trous et l'effluent arrivait par dessous et traversait les moules. Le lot 9 j a été mis en place le 23 avril, le lot 5 j le 27, le lot 3 j le 29 et le lot 2 j le 30 avril. Durant les incubations, des observations visuelles journalières des animaux ont été effectuées afin d'estimer un éventuel stress des bivalves pouvant générer une baisse ou même un arrêt de leur filtration. Tous les organismes ont été retirés de l'effluent le 2 mai puis expédiés en glacière à 4 °C au Laboratoire de Virologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy pour analyse des chairs.

ANALYSE DES CHAIRS DE BIVALVES

Dès réception, chaque lot de moules a été plongé et agité durant une minute dans un cristallisoir contenant de l'eau stérile de façon à laver les coquilles. Les moules ont ensuite été égouttées puis les tissus ont été prélevés dans des conditions stériles avant pesée puis congélation à -20 °C pendant 24 heures. L'extraction des virus a été effectuée selon la technique de BOHER & SCHWARTZBROD (1993). Celle-ci est fondée sur un broyage des tissus suivi par une ultrasonication et une élution des virus à l'aide d'une solution éluante (tampon borate à 3 % et extrait de bœuf) à pH = 9. L'extrait obtenu a ensuite été concentré selon la technique de double précipitation par le polyéthylène glycol 6000. Les concentrats ont été détoxifiés par filtration sur gel de Sephadex LH20 selon la technique préconisée par BÉRIL *et al.* (1991).

L'inoculation des concentrats d'entérovirus a été réalisée sur deux systèmes cellulaires en lignées établies, les cellules BGM et VERO, préalablement cultivées en monocouches dans des boîtes de Pétri en atmosphère enrichie à 5 % de CO_2 (SCHWARTZBROD, 1991). Dix boîtes de Pétri ont été inoculées par échantillon. Après dépôt de l'inoculum sur la culture cellulaire, l'adsorption des virus a été réalisée par contact de 2 heures à 37 °C en atmosphère enrichie à 5 % de CO_2. Après élimination de l'inoculum et lavage avec du milieu MEM, les tapis cellulaires ont été recouverts de milieu nutritif gélosé. Après 6 j d'incubation à 37 °C, les tapis cellulaires ont été fixés par addition d'une solution d'acide trichloracétique à 10 %, colorés avec une solution de cristal violet à 0,15 % et enfin rincés à l'eau courante. Les plages de lyse ont alors été dénombrées et les résultats exprimés en "unités" formant plage (UFP)/100 g de poids frais.

Source : MNHN

La mise en évidence et la quantification des coliphages ont été réalisées à partir des concentrats de mollusques par la méthode des plages de lyse selon la technique de la double couche en présence d'*E. coli* (souche ATCC 13 706). Les résultats ont été exprimés en UFP/100 g.

ANALYSE DES EFFLUENTS

Quatre recherches d'entérovirus et de coliphages ont été réalisées sur les effluents secondaires respectivement par le CRECEP et le Laboratoire du Havre. Les entérovirus ont été recherchés sur des échantillons ponctuels de 5 l d'effluent. Ils ont été concentrés sur de la laine de verre selon la technique décrite par VILAGINES *et al.* (1993) puis, après désorption à l'aide d'une solution de glycine 50 mM - extrait de bœuf 0,5 % de pH = 9,5, les virus contenus dans l'éluat ont été reconcentrés par floculation organique (KATZENELSON *et al.,* 1976). Le concentrat a été inoculé à des cellules BGM préalablement cultivées en monocouches. Après 2 heures d'adsorption, l'inoculum a été éliminé et les tapis cellulaires ont été rincés 3 fois à l'aide d'une solution isotonique contenant un mélange d'antibiotiques. Après 7 j d'incubation à 37 °C, les tapis cellulaires ont été fixés avec de l'acide chlorhydrique 0,1N, colorés pendant 20 minutes avec une solution de cristal violet à 2 g/l et enfin rincés à l'eau courante. Les plages de lyse ont alors été dénombrées et les résultats exprimés en UFP/5 l d'effluent.

Les coliphages ont été recherchés sur des échantillons ponctuels de 500 ml d'effluent selon la méthode de la double couche en présence d'E. coli ATCC 13 706. Les résultats ont été exprimés en UFP/ml. Les teneurs des effluents en divers métaux ont par ailleurs été mesurées : Le cadmium, le cuivre et le plomb ont été dosées par ICP (Projet ISO 11-885). Enfin, le mercure a été dosé selon la norme NFT 90-113 par absorption atomique à vapeur froide.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les concentrations en métaux des effluents ont été très faibles : 3, puis < 1 et 2 µg/l respectivement pour le cadmium, le plomb et le mercure. Ces concentrations ont été très inférieures aux seuils de toxicité définis par MOUABAD & PIHAN (1993) (respectivement 100, 400 et 10 µg/l), seuils au-delà desquels *D. polymorpha* réduit son taux de filtration. La concentration en cuivre (18 µg/l) a été légèrement supérieure au seuil de toxicité (15 µg/l) mais ceci n'a vraisemblablement pas gêné les mollusques. Les observations journalières réalisées pendant les incubations ont en effet toujours montré des lots d'animaux dont une grande majorité avait des valves entrouvertes et des siphons sortis, c'est-à-dire des animaux en filtration.

Le poids frais des tissus analysés a été variable, respectivement 75, 67, 52 et 57 g pour les lots 9, 5, 3 et 2 j.

TABLEAU I.– Concentrations en entérovirus (sur cellules BGM et VERO) et en coliphages somatiques (en Unités Formant Plage / 100 g de tissu frais) dans les tissus de *D. polymorpha* en fonction du temps d'exposition dans l'effluent épuré. ND = Non Détecté.

Enterovirus (on BGM and VERO cells) and somatic coliphages counts (in Plage Forming Unit / 100 g of fresh flesh) in D. polymorpha *tissues as a function of incubation time in the secondary effluent. ND = Not Detected.*

Temps d'exposition dans l'effluent (jours)	Entérovirus UFP/100 g de tissu		Coliphages UFP/100 g
	BGM	VERO	
9	ND	ND	ND
5	ND	ND	280
3	ND	22	200
2	ND	ND	ND

Les résultats des recherches de virus sont présentés dans le tableau I. Avec les cellules BGM, aucune plage de lyse n'a été observée sur les 4 échantillons. En revanche avec les cellules VERO, l'échantillon 3 j a été positif avec 22 UFP/100 g de tissu frais. Simultanément, la recherche de coliphages s'est révélée positive pour les lots 5 et 3 j, avec respectivement 280 et 200 UFP/100 g de tissu.

Une explication possible à la quasi-absence d'entérovirus dans les moules est une concentration très faible de ces micro-organismes dans les effluents : Dans 2 cas sur 4, aucun virus n'a été isolé dans 5 litres d'eau et dans les 2 autres cas les concentrations trouvées ont été de 1 et 5 virus par 5 litres. Ces concentrations sont inférieures à celles reportées pour d'autres effluents secondaires par SCHWARTZBROD *et al.* (1990). A Criel-sur-Mer, l'épuration des effluents est très efficace avec un rendement d'élimination des matières En suspension au cours du traitement toujours supérieur à 90 %, et une telle épuration se traduit vraisemblablement par une disparition importante des entérovirus lors de leur passage dans la station d'épuration.

Le pouvoir de concentration de *D. polymorpha* vis-à-vis des virus semble par ailleurs assez faible dans les conditions expérimentales testées : Les concentrations en coliphages somatiques ont été faibles dans les chairs après incubation alors que dans les effluents, elles ont été relativement importantes, respectivement 230, 46, 136 et 200 UFP/ml pour les quatre numérations. Toutefois, ces concentrations concernent à la fois les bactériophages libres et ceux adsorbés sur ou dans les particules. D'après DORÉ ET LEES (1995), plus de 90 % des bactériophages FRNA sont trouvés au sein de *Mytilus edulis* au niveau de son tractus digestif, ce qui semble signifier que les phages sont ingérés via des particules et non pas à l'état libre. Même si *D. polymorpha* présente une très bonne efficacité de rétention branchiale, pouvant retenir des particules à partir de 1 µm (SPRUNG ET ROSE, 1988), les quantités de phages pouvant être réellement filtrées doivent donc être inférieures aux quantités globales mesurées.

Source : MNHN

REEDERS *et al.* (1989) reportent que *D. polymorpha* filtre entre 0,5 et 1 l d'eau par heure et par individu, ce qui est faible comparé aux volumes filtrés par exemple par les individus de *Mytilus edulis*, jusqu'à 20 l par heure dans certaines conditions (BAYNE *et al.*, 1976). D'après BOHER & SCHWARTZBROD (1993), l'accumulation maximale des virus au sein de mollusques comme *M. edulis* ou *Crassostrea gigas* se fait en quelques heures, puis elle se maintient à un niveau de concentration qui est fonction du bilan bioaccumulation - relargage. Ceci est toutefois valable dans des conditions de laboratoire, lorsque ces mollusques, qui filtrent rapidement de grands volumes d'eau, sont incubés en présence de concentrations virales importantes. Dans notre cas, les individus de *D. polymorpha* ont sans doute été maintenus trop longtemps dans l'effluent, ce qui a pu favoriser l'élimination naturelle des virus éventuellement filtrés, l'apport en nouveaux virus étant limité compte-tenu du faible volume filtré par unité de temps et de la faible concentration virale des effluents.

Il faut également signaler que les résultats concernant les entérovirus auraient pu être différents si les analyses avaient été pratiquées avec des méthodes de biologie moléculaire telle la Polymerase Chain reaction (PCR) (KOPECKA *et al.*, 1993 ; LE GUYADER *et al.*, 1995). Cependant, dans cette étude, nous avons fait le choix de rechercher les entérovirus infectieux qui ne peuvent, dans l'état actuel de la technologie, être mis en évidence que par inoculation sur des cultures cellulaires *in vitro*. Nous n'avons pas cherché à mettre en évidence du matériel viral représenté soit par le génome détecté par PCR, soit par des protéines de la capside virale détectées par des techniques immunologiques. En effet, cette étude a été réalisée pour mettre au point une méthode de concentration *in vivo* qui permette d'estimer les performances d'un traitement de désinfection pour l'élimination des virus. Dans ce cas, l'important est de déterminer si, après le traitement, il y a encore présence de virus infectieux susceptibles d'infecter l'homme dans le milieu récepteur.

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus lors de cette étude n'ont pas été suffisamment encourageants pour envisager une poursuite du travail. *Dreissena polymorpha* semble tout de même avoir la possibilité de concentrer les entérovirus indigènes dans des eaux usées épurées relativement peu contaminées. Des travaux complémentaires comme l'estimation de la cinétique d'accumulation des virus, au laboratoire, puis la vérification de cette cinétique sur un effluent connu pour avoir des charges virales assez élevées devront être conduits pour conclure si *D. polymorpha* présente ou non un intérêt comme bioindicateur de pollution virale. Si tel était le cas, cet indicateur pourrait être placé avant et après une unité de désinfection pour évaluer l'efficacité de cette dernière vis-à-vis des virus.

REMERCIEMENTS

Les auteurs souhaiteraient remercier l'Agence de l'Eau Seine-Normandie, pour sa participation financière, plusieurs referees anonymes pour leurs suggestions ainsi que Mademoiselle Colombe RABOURG pour sa participation au déroulement de cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

BAYNE, B.L., THOMPSON, R.J. & WIDDOWS, J., 1976.– Physiology. *In :* BAYNE, B.L. (ed), *Marine mussels : Their ecology and physiology.* IBP, vol. 10, Cambridge University Press : 121-206.

BERIL, C., BOHER, S. & SCHWARTZBROD, L., 1991.– Detoxification by Sephadex LH20 of seafood concentrates for rotavirus assay. *Wat. Sci. Tech.*, 24 : 417-421.

BOHER, S. & SCHWARTZBROD, L., 1993.– Study of viral purification of oysters. *Wat. Sci. Tech.*, 27 : 55-60.

DORE, W. & LEES, D., 1995.– Behavior of *Escherichia coli* and male-specific bacteriophage in environmentally contaminated bivalve molluscs before and after depuration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61 : 2830-2834.

GAILLOT, D., TERVER, D., FINANCE, C. & SCHWARTZBROD, L., 1988.– Improved method for contamination of mussels by poliovirus. *Int. J. Food Microbiol.*, 6 : 333-339.

HAVELLAR, A., VAN OLPHEN, M. & DROST, Y., 1993.– F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 : 2956-2962.

KATZENELSON, E., FATTAL, B. & HOSTOVESKY, T., 1976.- Organic flocculation : An efficient second step concentration method for the detection of viruses in tap water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32 : 638-639.

KOPECKA, H., DUBROU, S., PREVOT, J., MARECHAL, J. & LOPEZ-PILA, J.M., 1993.– Detection of naturally occuring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction and hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 : 1213-1219.

LE GUYADER, F., MENARD, D., POMMEPUY, M. & KOPECKA, H., 1995.– Use of RT seminested PCR to assess viral contamination in carribean rivers (Martinique). *Wat. Sci. Tech.*, 31 : 391-394.

MACKIE, G.L. & WRIGHT, C.A., 1994.– Ability of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* to biodeposit and remove phosphorus and BOD from diluted activated sewage sludge. *Wat. Res.*, 5 : 1123-1130.

MERSCH, J. & JOHANSSON, L., 1993.– Transplanted aquatic mosses and freshwater mussels to investigate the trace metal contamination in the rivers Meurthe and Plaine, France. *Environ. Tech*, 14 : 1027-1036.

MOUABAD, A. & PIHAN, J.C., 1993.– Le test comportemental de *Dreissena polymorpha :* Un outil biologique de prévision et d'évaluation de la toxicité en milieu d'eau douce. *Hydroécol. Appl.*, 5 : 97-109.

REEDERS, H.H., BIJ de VAATE, A. & SLIM, F.J., 1989.– The filtration rate of *Dreissena polymorpha* (Bivalvia) in three dutch lakes with reference to biological water quality management. *Freshw. Biol.*, 22 : 133-141.

Source : MNHN

RICHARDS, G.P., 1987.– Shellfish-associated enteric virus illness in the United States, 1934-1984. *Estuaries*, 10 : 84-85.

SCHWARTZBROD, L., 1991.– *Virologie des milieux hydriques*. Lavoisier Tec et Doc (ed) : 303 p.

SCHWARTZBROD, L., JEHL-PIÉTRI, C., BOHER, S., HUGUES, B., ALBERT M. & BÉRIL, C., 1990.– Les contaminations par les virus. Dans : *La mer et les rejets urbains,* Bendor, 13-15 juin 1990, Actes de colloques 11 : 101-114.

SPRUNG, M. & ROSE, U., 1988.– Influence of food size and food quantity on the feeding of the mussel *Dreissena polymorpha*. *Oecologia*, 77 : 526-532.

VILAGINES, P., SARRETTE, B., HUSSON, G. & VILAGINES, R., 1993.– Concentration à pH neutre des virus hydriques dans des eaux de surface : Etude quantitative et qualitative. *J. Fr. Hydrol.*, 20 : 193-202.

WEST, P. & COLEMAN, M., 1986.– A tentative national reference procedure for the isolation and enumeration of *Escherichia coli* from bivalve molluscan shellfish by most probable number method. *J. Appl. Bacteriol.*, 61 : 505-516.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

The epurated wastewaters from sewage treatment plants carry many micro-organisms some of which are pathogenic for man. Enteric viruses can be dangerous when effluents are discharged near shellfish farms. Viruses are present in the effluents at low and variable concentrations, and the analysis is complex, time - consuming and expensive. Virus analyses are thus rarely conducted and it is difficult to control the performances of installed disinfection units. The aim of our research was to define an in vivo viral concentration system which could allow the assessment of antiviral performances of disinfection units. *Dreissena polymorpha* is a bivalve abundant in european and north-american lakes and rivers, where it is commonly used as a bioaccumulator of metallic pollution. This study presents attempts to use *D. polymorpha* as a bioindicator of viral pollution in epurated wastewaters. Sets of mussels were incubated for different time durations in a sewage treatment plant effluent. Enteroviruses and somatic coliphages analyses were performed on mussel tissue and effluents.

Experiments were conducted in April and May 1994 at the Compagnie Générale des Eaux research center and on the Criel sur Mer sewage treatment plant (Seine-Maritime France). In the laboratory, four sets of 100 mussels were stored in a tank supplied with water from the Seine river mixed with tap water. Before transfer to the plant, each set was fed for 48 h with disinfected tap water. The 4 sets were incubated in the effluent for 9, 5, 3 and 2 days respectively, in a tank whose 4 compartments were continuously under the same water flow conditions. The 9-day set was incubated the 23th of April, the 5-day set the 27th, the 3-day set the 29th and the 2-day set the 30th of April. All bivalves were collected the 2nd of May, and then sent to the laboratory for tissue analysis. After extraction, enteroviruses and bacteriophages were concentrated with a polyethylen glycol double precipitation, then detoxified by Sephadex gel filtration. For enteroviruses, inoculation was made on BGM and VERO cells. Virus confinement and quantification were carried out by the lysis plaques technique.

Enteroviruses and coliphages were counted four times on the effluents by the lysis plaques method. Enteroviruses were concentrated on glass wool then reconcentrated by floculation after desorption. Concentrates were inoculated on BGM cells.

Cadmium, lead and mercury concentrations in the effluents were lower than toxicity thresholds known to reduce *D. polymorpha* filtration rate. Copper concentration was close to the toxicity threshold. With BGM cells, no enterovirus was found in the tissue of the 4 sets of *D. polymorpha*. After inoculation on VERO cells, the 3-day set was positive with 22 PFU/100 g of fresh tissue. These low enterovirus concentrations can be related to low concentrations of these micro-organisms in the effluents : In 2 out of 4 analyses, no enterovirus was found in 5 liters of effluent and in the two other cases concentrations were 1 and 5 PFU/5 l. For the bacteriophages, concentrations of 280 and 200 PFU/100 g of fresh tissue were measured in the 5 and 3-day sets respectively. These concentrations were fairly low considering the phage concentrations in the effluents (between 46 and 230 PFU/ml) even if these concern both the free and the particle associated phages, of which only the latter can be retained by the bivalves. Moreover, the bivalves were perhaps left too long in the effluent, which could favour the natural evacuation of the viruses.

In conclusion, *D. polymorpha* seems to have the capability to concentrate viruses in low weakly polluted effluents but it would be necessary to estimate the accumulation rates of viruses in the laboratory and to confirm it on a more contaminated effluent before concluding on *D. polymorpha*'s real value as a bioindicator of viral pollution. If bioindicative qualities are detected, bivalves could be incubated upstream and downstream of a disinfection unit to estimate the efficiency of the latter against viruses.

Source : MNHN

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 263-268

THE CLAM, *RUDITAPES DECUSSATUS* L., AS A POLLUTION BIOINDICATOR: ZINC AND LEAD ACCUMULATION AND DEPURATION*

Luisa CASTRO, Carlos CARMO[1], Isabel PERES[1] & Jean-Claude PIHAN[2]

DCEA/FCT - Universidade Nova de Lisboa, Qta da Torre - 2825 Monte de Caparica, Portugal.
[2]Centre de Recherches Ecologiques, UFR SciF.A. - Université de Metz, BP 4116 - F-57040 Metz Cedex, France.

SUMMARY
(original scientific paper)

This study concerns the use of clams (Ruditapes decussatus) *as bioindicators for the survey of estuarine pollution by zinc and lead. The clams were transferred from an extensive aquaculture unit in an unpolluted coastal lagoon (Ria Formosa) in South Portugal to a polluted area in the Tagus Estuary.*
The transplanted clams belonged to the dominant size class (30-35 mm) and were kept in simple meshed boxes lowered onto the sediment. The field experiments were recovered at 0, 2, 7, 14 and 28 days and analysed for Zn and Pb by atomic absorption spectrometry. Decontamination assays of field-exposed clams were carried out in the laboratory using the same procedure, in order to establish the decontamination kinetics of the biological material. Results showed significant accumulation and depuration, with different rates for Pb and Zn. The clam's response to changing levels of pollution (polluted-field and unpolluted-lab) display a bioindicator behaviour.

KEY WORDS : Bioindicator - Accumulation - Depuration - *Ruditapes decussatus* - Zinc - Lead.

RÉSUMÉ
(travail original)

ÉVALUATION DU MOLLUSQUE BIVALVE, RUDITAPES DECUSSATUS *L. COMME BIOINDICATEUR : ACCUMULATION ET DÉCONTAMINATION DU ZINC ET DU PLOMB.*
Cette étude concerne l'évaluation du mollusque bivalve (Ruditapes decussatus) *comme bioindicateur de micropolluants métalliques (zinc et plomb), dans un milieu estuarien, l'estuaire du Tage. Des palourdes d'une aquaculture située dans une lagune littorale non polluée chimiquement, Ria Formosa, sur la côte sud du Portugal, sont transplantées dans l'estuaire du Tage, dans une zone localisée en aval des rejets industriels. Les lots de palourdes, de la classe de taille 30-35 mm, ont été placés dans cinq cages cylindriques en grillage plastifié immergées jusqu'au sédiment. Les échantillons ont été prélevés après les 0-2-7-14 et 28 jours ; le zinc et le plomb ont été analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique. Les essais de décontamination ont été réalisés au laboratoire, en utilisant le même procédé que celui retenu pour l'étude de la contamination, afin d'effectuer la cinétique de détoxication du matériel biologique. Les résultats montrent une accumulation et une dépuration significatives, avec des taux différents pour les deux métaux.*
La palourde R. decussatus *répond à des conditions différentes de pollution (terrain et laboratoire), ce qui démontre un comportement de bioindicateur.*

MOTS CLÉS : Bioindicateur - Accumulation - Dépuration - *Ruditapes decussatus* - Zinc - Plomb.

INTRODUCTION

Heavy metals have a great ecological significance because of their toxicity and accumulative behaviour (PURVES, 1985). Heavy metals such as Pb, Zn and Cd play a prominent role in marine ecosystems. They occur in all compartments of the marine environment and tend to accumulate in organisms. Along this pathway, traces of toxic metals could become a potential hazard for humans in relation to the degree of sea food consumption (AMIARD *et al.*, 1987).

High zinc, copper and lead concentrations were measured in the lower Tagus estuary (VALE, 1982).

Zinc is an essential nutrient but can also be toxic depending on its concentration and biological availability. Food organisms may be affected directly, through the

* Manuscrit reçu le 20 mars 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 25 septembre 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

toxic effects of trace metals, or may become unsuitable for human consumption because high levels of trace metals are present in their tissues.

Lead as a pollutant has assumed particular importance because of its relatively high toxicity to humans, and especially because it causes brain damage in children, who are particularly at risk (NRIAGU, 1988; POCOK, 1987).

Molluscs, in particular bivalves, have the ability to accumulate trace metals in their tissues, where concentrations may be higher than in the environment. They are often used and recommended (PHILLIPS, 1980; MAURI, 1985) as bioindicators of trace metal pollution.

Bioconcentration of toxic metals in bivalves is accomplished by long-term sequestration and storage, often referred to as "detoxification" mechanisms by induction of metallothioneins (GEORGE, 1983; NOTT and LANGSTON, 1993; BEBIANNO *et al.*, 1993; BEBIANNO *et al.*, 1994; ROMÉO and GNASSIA-BARELLI, 1995).

Mussels and oysters have been employed in bioindicator studies with considerable success (GOLDBERG *et al.*, 1986; LAUENSTEIN *et al.*, 1990), but only little data exist on the clam *R. decussatus* (CORTESÃO *et al.*, 1986; COSTA *et al*, 1993).

The clam *R. decussatus* has many characteristics which appear to satisfy the requirements for an ideal indicator.

The aim of this study was to investigate the accumulation of lead and zinc by the clam *R. decussatus* in its natural environment, and to test its value as a bioindicator by transplantation in the Tagus estuary. Laboratory decontamination assays were also undertaken to understand the depuration process and establish the depuration kinetics of the biological material.

FIG. 1.– Location of the clam transplantation station (#).

Localisation de la station de transplantation des palourdes (#).

MATERIAL AND METHODS

FIELD TRANSPLANTATION EXPERIMENTS

Clams *R. decussatus* of standardized shell size (30 ± 5 mm) were collected from an aquaculture farm in the unpolluted area of Ria Formosa (Southern Portugal) and then transplanted to a polluted area in the Tagus Estuary, where sewage and industrial effluents are discharged (from chemical, steel and other industries) (FIG. 1).

Transplanted clams were placed in 5 simple mesocosms consisting of double-layered nylon mesh bags (30 x 10 cm) containing 10 clams each, kept inside 2 boxes (60 x 30 x 20 cm) placed on the sediment. In the same conditions, another larger bag (40 x 20 cm) with 60 clams, was used for the decontamination assays.

Biological and water sampling for metal analyses were performed after 0, 2, 7, 14, 21, 28 days of exposure. Local water characteristics (temperature, pH, salinity, dissolved oxygen DO and particulate organic matter POM were measured at the time of the sampling.

Six clams were taken, from each bag, rinsed with seawater from the site to remove adhering materials, and transported at 10°-15°C to the laboratory inside clean nylon bags.

The clams were kept overnight in clean aerated seawater for defecation before the analyses. Biological samples were deep-frozen for storage.

LABORATORY DECONTAMINATION EXPERIMENTS

Seawater was collected weekly from a clean site on the coast near Lisbon. Metal concentrations were checked (2 $\mu g.l^{-1}$ for Zn and 0.7 $\mu g.l^{-1}$ for Pb). Salinity, pH and temperature of stored seawater were measured daily, with average values of 33.5 ‰, 7,5 ± 5 and 15° ± 2C°, respectively.

After 28 days in the field, 60 clams were brought to the laboratory for decontamination and placed in 2 polyethylene tanks filled with 20 L 0.45 µm filtered seawater (30 clams per tank). Continous aeration was used and the experimental media were renewed every two days. Clams were fed every day with a culture of *Phaeodactylum tricornutum* corresponding to c. 3 mg dw. $ind^{-1}.d^{-1}$. Sampling procedure was the same as in the field study.

Source : MNHN

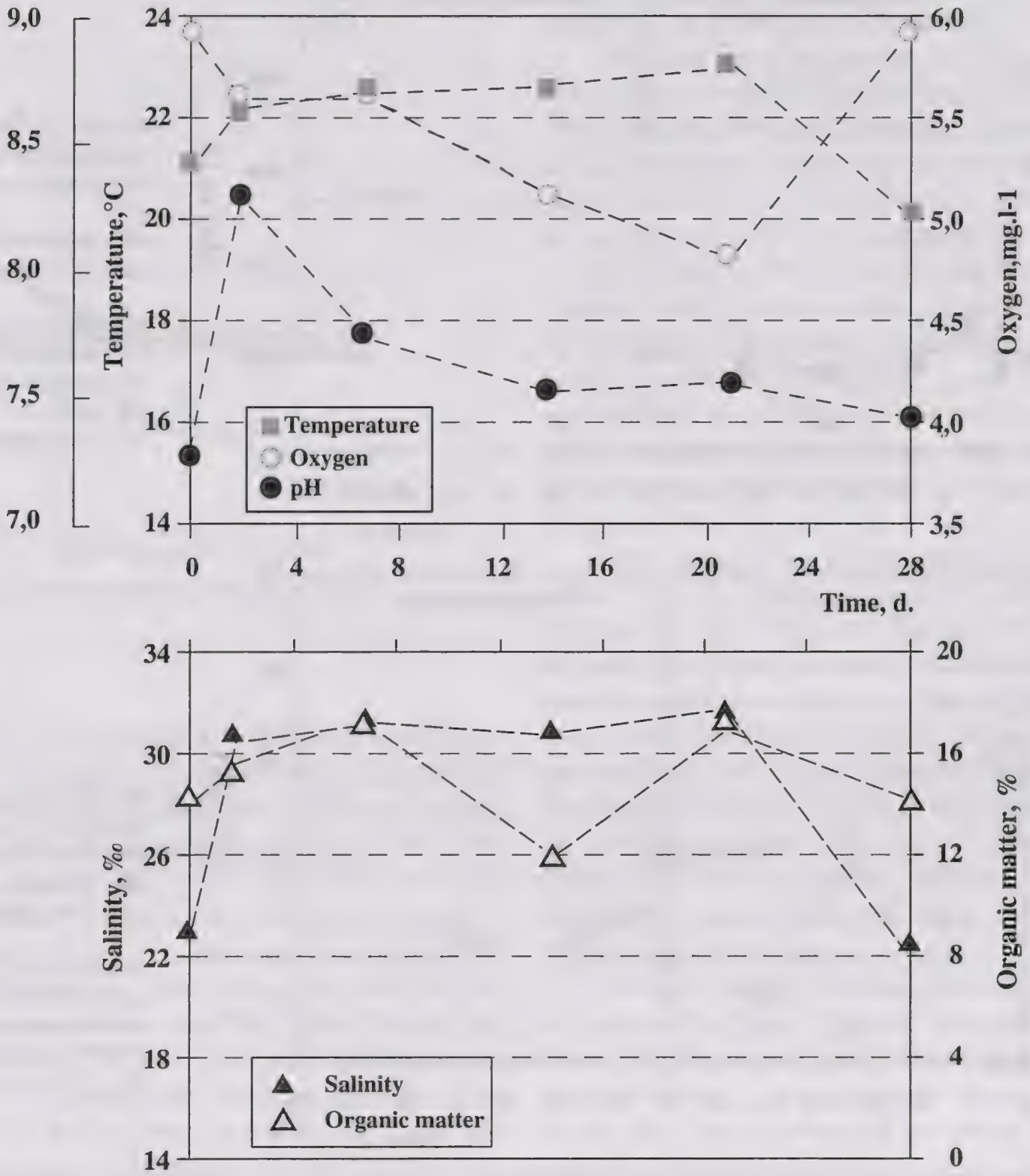


FIG. 2.– Water characteristics on the clam transplantation station

Caractéristiques de l'eau de la station de transplantation des palourdes

Clams were frozen for a few hours and allowed to open. Soft parts were washed with 0,5 M ammonium formate to eliminate salt, separated from the shell and oven dried in plastic layered Petri dishes, at 60° C to constant weight, for about 48 h.

Subsamples of 3 clams (dry tissue) were pooled and grounded with an agate ball mill. About 1 g equivalent dry weight underwent a wet digestion in a Teflon digestion bomb, with 5 ml of NHO_3 (Merck p.a.) in a waterbath at 100° C for 4 hours. 1 ml of H_2O_2 30% (Merck p.a.) was then added and digestion continued at the same temperature for 1 hour. The sample solution was collected in 25 ml volumetric flasks with distilled water.

Water samples (dissolved + particulate) (100ml) were extracted into freon using as complexing agent a solution of ammonium pyrolidine dithiocarbamate (APDC) and diethylammonium-N, N-diethyldithiocarbaminat (DDDC) and acetate buffer 1: 1, in Teflon extraction bottles. Distilled water was added to 100 µl of NHO_3 to make up a final volume of 5 ml. Thus the initial sample was concentrated 20 times .

Metals were analysed by atomic absorption spectrophotometry (PYE UNICAM -Phillips Modelo SP9). Zinc levels were determined by flame atomization and a graphite furnace was used for lead. Detection thresholds were $1\mu g.l^{-1}$ and $0.1\mu g.l^{-1}$ for Zn and Pb, respectively.

Source : MNHN

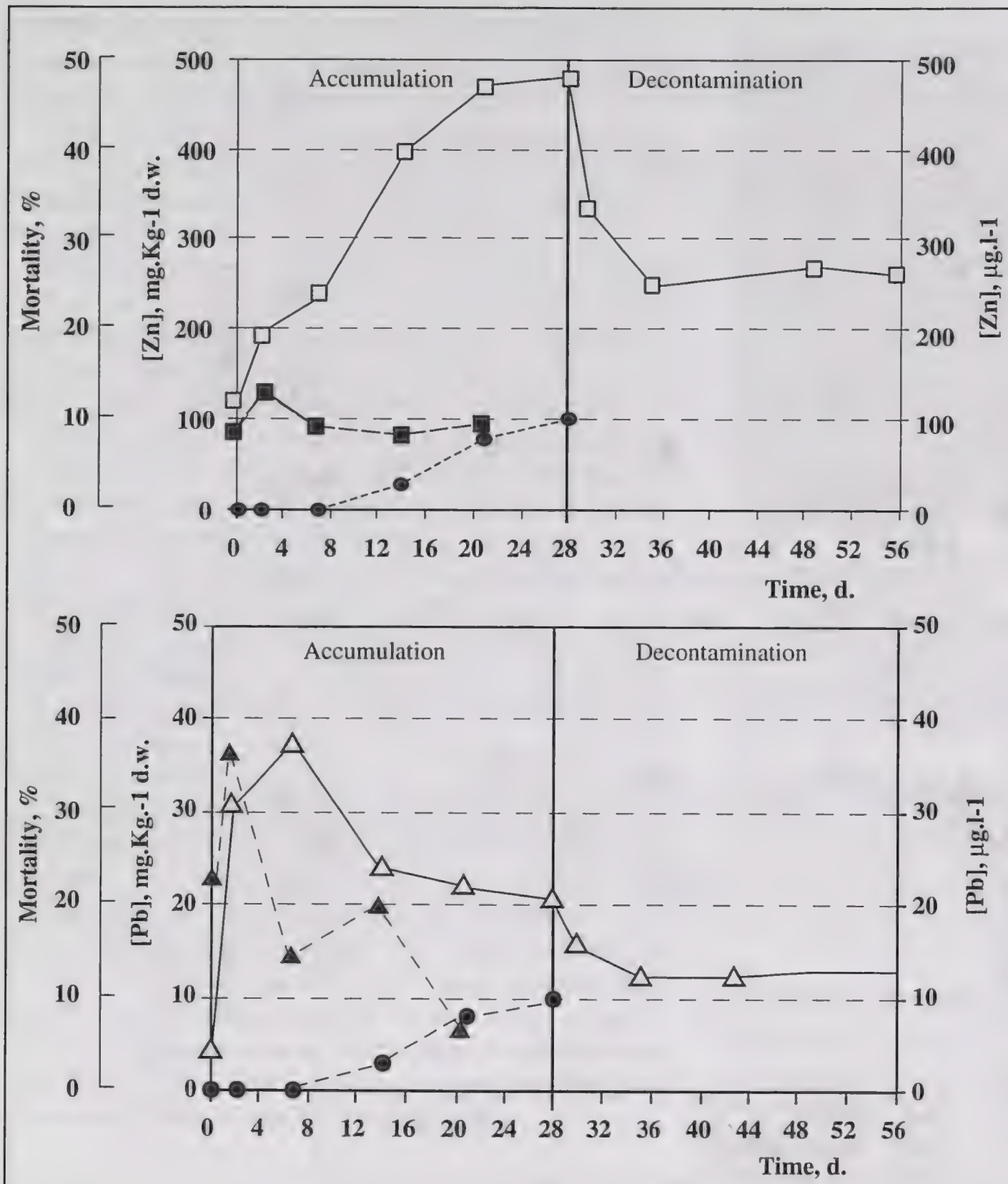


FIG. 3.– *R. decussatus* mortality, Zn accumulation (field) and decontamination (lab) (● - mortality, ■ - [Zn] water, ❐ - [Zn] clams).

Mortalité de R. decussatus *accumulation (terrain) et décontamination (lab) de Zn (● - mortalité, ■ - [Zn] eau, ❐ - [Zn] palourdes).*

FIG. 4.– *R. decussatus* mortality, Pb accumulation (field) and decontamination (lab) (● - mortality, ▲ - [Pb] water, △ - [Pb]. clams).

Mortalité de R. decussatus *accumulation (terrain) et décontamination (lab) de Pb (● - mortalité, ▲ - [Pb] eau, △ - [Pb] palourdes).*

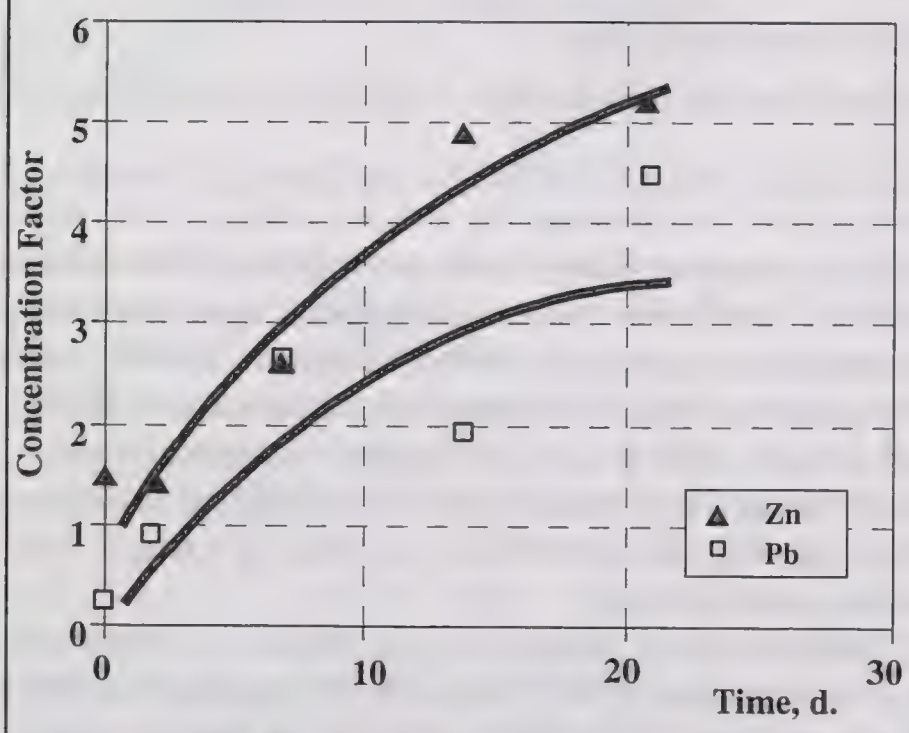


FIG. 5.– Concentration factors (field).

Facteurs de concentration (terrain).

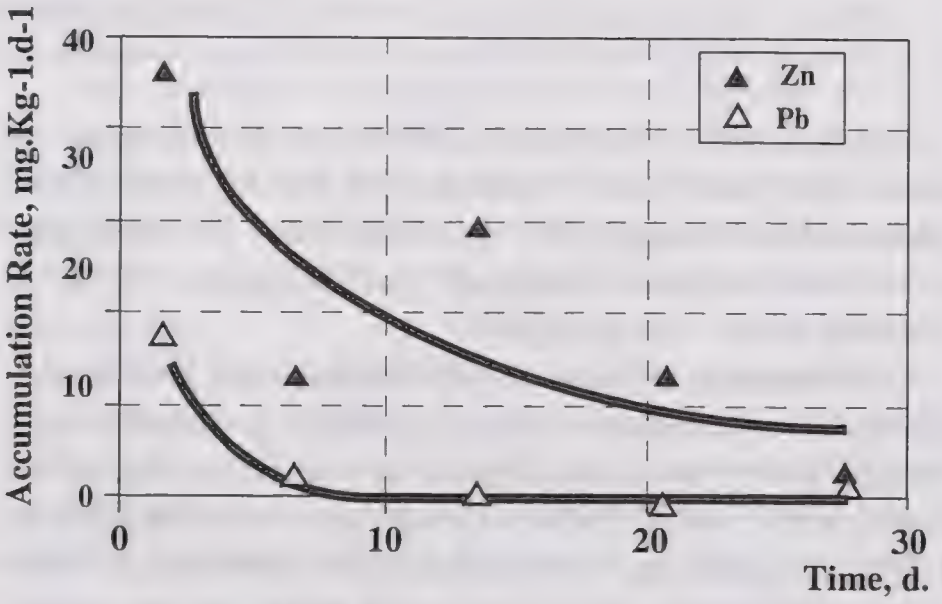


FIG. 6.– Accumulation rates (field).

Taux d'accumulation (terrain).

Source : MNHN

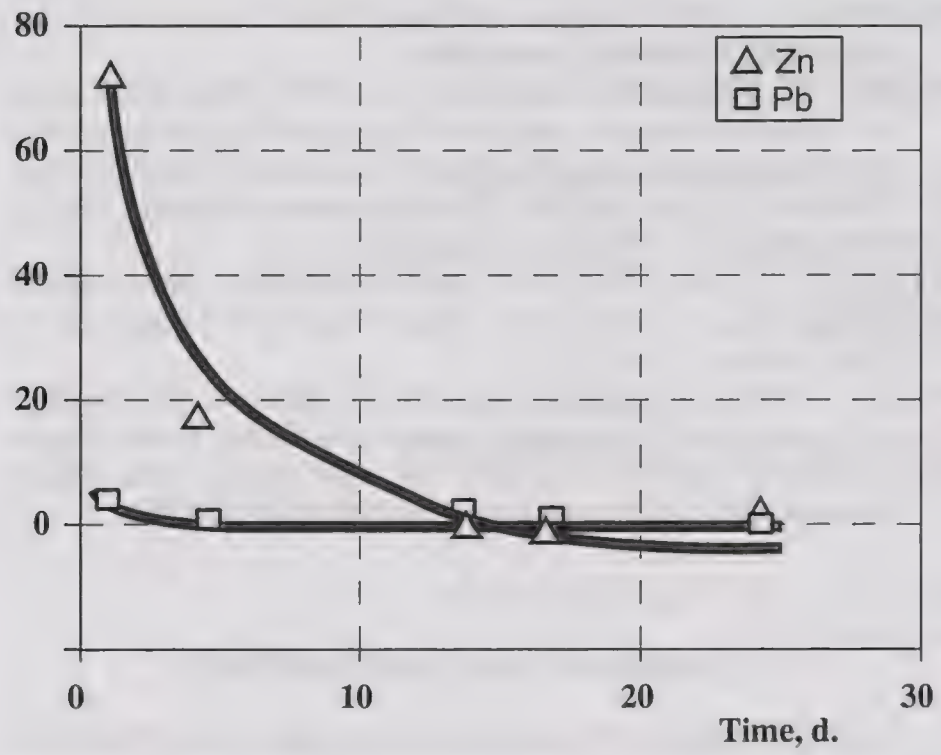


FIG. 7.– Decontamination rates (lab).

Cinétique de décontamination (laboratoire).

All samples were prepared in duplicate and two controls (with reagents only) were used. Analytical methodology for water and clam tissue samples was tested using a certified reference material SLRS-2 and CRM 278 (mussel tissue), respectively. Agreement with certified values for the reference materials was good in all analyses.

Concentration factors (CF), defined as the ratio of the metal concentration in the tissue to the metal concentration in the water, were calculated using the following equation: CF = (Can - Cao) / Cw, where Can is the concentration of the metal in the tissue on day n, Cao is the concentration in the tissue on day 0, and Cw is the metal concentration in the water. Accumulation (or decontamination) rates (AR or DR) defined as the metal uptake (or release) per unit tissue weight and time, were calculated according to the following equation: AR = (Can- Cao)/W.t., where "W" is tissue weight and "t" the time elapsed between Can and Cao.

RESULTS AND DISCUSSION

Field physicochemical conditions were relatively uniform over the exposure period, except for pH and metal concentrations which peaked briefly on day 2 (FIG. 2, 3, 4). This brief rise could be due to an isolated discharge of an industrial effluent at low tide.

Water concentrations values of total Pb and Zn ($\mu g.l^{-1}$) were quite high (FIG. 3 and 4) when compared with results indicated elsewhere (VALE, 1982; SANTOS, 1987), This could be attributed to the heterogeneity of the site's waters, apart from several outfalls in the zone.

Mortality of clams did not exceed 10% (FIG. 3, 4) indicating that transplantation did not affect survival conditions of the biological material.

Although Zn accumulation ($\mu g.g^{-1}$ dry wheight) was more important than Pb accumulation ($\mu g.g^{-1}$ dry wheight) (≈10 x) in the biological material, different patterns were observed (FIG. 3, 4). Lead tended to follow the concentration variation in the water, which is in accordance with the field experimental studies of AMIARD *et al.* (1987). These authors have showed that concentrations in non-essential metals (cadmium and lead) in organisms are strongly dependent on concentration levels in the environment. Lead can be directly accumulated from seawater and sediments, especially in marine organisms such as clams which utilize gill tissue as a major route of nutrient uptake (LOUMA & BRYAN, 1982; LOUMA, 1986).

Concerning zinc accumulation, studies on *Perna viridis* (CHAN, 1988) and on *Mytilus edulis* (AMIARD - TRIQUET *et al.*, 1986 and PHILIPS & RAINBOW, 1988) indicate that bivalves have a marked ability to regulate internal metal concentrations. Our results show a similar behaviour which is certainly related to the induced production of metallothioneins. Evolution of Concentration Factors (CF) is depicted in Figure 5, and Accumulation Rates (AR) ($\mu g.g^{-1}$ per day) in Figure 6. While AR of Zn significantly decreases in time, AR of Pb reaches a constant level after a few days, confirming the observations stated above.

Decontamination of biological material was achieved as indicated in figures 3 and 4. Although Decontamination Rates (FIG. 7) are much faster initially for Zn than for Pb, in absolute values, the percentage of total metal evacuated during the observation period is similar, 45,4% and 37,8%, respectively for Zn and Pb.

In conclusion, field experiments have enabled the identification of different responses of clams to lead (non-essential metal) and zinc, according to the internal capacity to regulate metal accumulation.

Ruditapes decussatus's responses to contrasting pollution conditions (polluted-field and unpolluted-lab) display a bioindicator behaviour, explicit reaction to media conditions. Moreover, persistance of metal concentrations in the tissues after the decontamination period (28 days) is of particular interest. This characteristic of the clam's behaviour could act as a "record" and help understand the variations in pollution levels. The bioindication value of these clams would then be greatly enhanced.

Although usefulness of clams as bioindicators for metals in water can be assumed, for a correct interpretation of the analytical values, research work is still required to understand the influence of local environmental factors on the mechanisms of metal uptake and on the conditions that facilitate decontamination. Research work on the

Source : MNHN

histochemical and histopathological aspects of this study is being carried out with the objective of a better understanding of the accumulation and decontamination processes.

REFERENCES

AMIARD, J.C., AMIARD-TRIQUET, C., BERTHET, B. & METAYER, C., 1987.– Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essencial (Cu, Zn) and non-essencial (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 106: 73-89.

AMIARD-TRIQUET, C., BERTHET, B., METAYER, C. & AMIARD, J.C.1986b.– Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*. II Experimental study. *Mar. Biol.*, 92: 7-13.

BEBIANO, M.J., NOTT, J.A. & LANGSTON, W.J., 1993.– Cadmium metabolism in the clam *Ruditapes decussata:* the role of metallotioneins. *Aquatic Toxicol.*, 27: 315-334.

BEBIANO, M.J., SERAFIM, M.A. & RITA, M.F., 1994.– Involvement of metallothionein in cadmium accumulation and elimination in the clam *Ruditapes decussata. Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 53: 726-732.

CHAN, H.M., 1988.– Accumulation and tolerance to cadmium, copper, lead, and zinc by the green mussel *Perna viridis Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 48: 295-303.

CORTESÃO, C., MENDES, R. & VALE, C., 1986.– Metais pesados em bivalves e sedimentos na Ria Formosa, Algarve. *Bol. Inst. Nac. Invest. Pescas*, 14: 3-28.

COSTA, M.H., CASTRO, L., SOBRAL, P. & PERES, I., 1993.– Environmental conditions in two extensive cultures of *Ruditapes decussatus* L. (Bivalvia). Relationship with physiological aspects. *Mesogée*, 53: 35-40.

GEORGE, S.G., 1983.– Heavy metal detoxification in *Mytilus edulis* kidney; an in vitro study of cadmium binding and zinc binding to isolated tertiary lysosomes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76C: 575-590.

GOLDBERG, E.D., 1986.– The mussel watch concept. *Environment Monitoring and Assessment.*, 7: 91-103.

LAUENSTEIN, G.G., ROBERTSON, A. & O' CONNOR, T.P., 1990.– Comparison of trace metal data in mussels and oysters from a mussel watch programme of the 1970's with those from a 1980's programme. *Mar. Poll. Bull.*, 21 (9): 440-447.

LOUMA, S.N., 1986.– Cycling of Pb into food webs in aquatic environments, pp.146-161. *Report for the Commission on Lead in the Environment,* The Royal Society of Canada.

LOUMA, S.N., & BRYAN, G.W. 1982.– A statistical study of environmental factors controlling concentrations of heavy metals in the burrowing bivalves *Scrobicularia plana* and the polychaete *Nereis diversicolor. Est. Coastal Sehlf Sci.*, 15: 95-108.

MAURI, M., 1985.– Les mollusques bivalves marins comme bioindicateurs pour les métaux lourds. *Symbioses.*, XVII: (2), 89-98.

NOTT, J.A. & LANGSTON, W.J., 1993.– Effects of cadmium and zinc on the composition of phosphate granules in marine snail *Littorina littorea. Aquat. Toxicol.*, 25: 43-54.

NRIAGU, J.O., 1988.– A silent epidemic of environmental metal poisoning? *Environ. Pollt.*, 50: 139-161.

PHILLIPS, D.J.H., 1980.– Quantitative Aquatic Biological Indicators. Pollution Monitoring Series. Applied Science Publishers Ltd., London, 488 pp.

PHILLIPS, D.J.H. & RAINBOW, P.S., 1988.– Barnacles and mussels as biomonitors of trace elements a comparative study. *Mar Ecol. Prog. Ser.*, 49: 83-89.

POCOK, S. ASHBY, D. & SMITH, M., 1987.– Lead exposure and children's intellectual performance. *Int. J. Epidemiol.*, 16: 57-67.

PURVES, D., 1985.– *Trace Element Contamination of the Environment*, Elsevier, Amsterdam

ROMÉO, M. & GUASSIA-BARELLI, M., 1995 - Metal distribution in different tissues and in subcellular fractions of the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus* traeted with cadmium, copper or zinc. *Comp. Biochem. Physiol.*, 111 C: 457-463.

SANTOS, G., 1987 - Traços de cádmio, chumbo, cobre e zinco dissolvidos, no Estuário do Tejo. Actas do 1º Congresso do Tejo. Lisboa, 1: 275-279.

VALE C., 1982 - Geographical and tidal variations in the chemical composition of suspended particulate matter in the Tagus estuary. *Estuarine Processes: An Application to the Tagus Estuary*, 295-316 Proceedings of a UNESCO/IOC/CNA

VERSION FRANÇAISE ABRÉGÉE

Cette étude concerne l'évaluation du mollusque bivalve *Ruditapes decussatus* comme bioindicateur de micropolluants métalliques (zinc et plomb), dans un milieu estuarien, l'estuaire du Tage.

La capacité des bivalves à accumuler des métaux lourds a fait l'objet de plusieurs études afin d'utiliser des moules et des huîtres comme indicateurs biologiques. Les caractéristiques de la palourde, *R. decussatus* semblent satisfaire en effet aux exigences d'un organisme indicateur idéal.

L'objectif de cette étude a été de rechercher l'accumulation du zinc et du plomb chez le bivalve *R. decussatus* dans un environnement naturel. Des palourdes d'une aquaculture située dans une lagune littorale non polluée chimiquement, Ria Formosa, sur la côte sud du Portugal, sont transplantées dans l'estuaire du Tage, dans une zone localisée en aval de rejets industriels.

Des essais de décontamination ont été aussi effectués au laboratoire afin d'obtenir une cinétique de détoxication.

Les lots de palourdes, de la classe de taille 30-35 mm, ont été placés dans cinq cages cylindriques en grillage plastifié immergées jusqu'au sédiment, dans une position qui assure une bonne circulation de l'eau au contact des organismes. Dans les mêmes conditions, une autre cage, plus large que les précédentes, a aussi été immergée avec des individus pour l'étude ultérieure de la décontamination.

Les échantillons ont été prélevés après 0-2-7-14 et 28 jours; le zinc et le plomb on été analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique.

La mortalité des palourdes n'a pas dépassé 10 %, ce qui indique que la transplantation n'a pas affecté leurs conditions de survie.

L'accumulation du zinc a été plus importante que pour le plomb (≈ 10x) et continue, tandis que celle du plomb a montré une tendance à suivre la variation observée dans l'eau.

Les résultats ont montré une accumulation et une dépuration significatives, avec des taux différents pour les deux métaux. Le taux d'accumulation du zinc a diminué avec le temps, contrairement à celui du plomb qui atteint un niveau constant après quelques jours.

Malgré des taux de décontamination plus importants pour le zinc que pour le plomb, en valeur absolue, le pourcentage de métal total éliminé pendant la période d'observation est similaire pour le zinc (45,4 %) et le plomb (37,8 %).

Les expériences sur le terrain montrent que la concentration en plomb (métal non-essentiel) dans l'organisme est fortement dépendante des niveaux présents dans l'environnement, suivant un modèle différent de ce qui a été observé pour le zinc, qui est de type cumulatif. Ce fait semble indiquer une capacité des palourdes à réguler les concentrations internes en zinc.

La palourde *R. decussatus* répond à des conditions différentes de pollution (terrain et laboratoire) ce qui démontre un comportement de bioindicateur.

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 269-276

SENSITIVITY OF A MARINE AMPHIPOD TO NON-CONTAMINANT VARIABLES AND TO COPPER IN THE SEDIMENT*

Filipe Oliveira COSTA, Ana Dulce CORREIA & Maria Helena COSTA

Depart° de Ciências e Eng^a^ do Ambiente. F.C.T. / Universidade Nova de Lisboa, 2825 Monte de Caparica, Portugal

SUMMARY
(original scientific paper)

The potential of the amphipod Gammarus locusta *as a toxicity test organism has been studied. The sensitivity to non-contaminant variables and to copper spiked sediments (with different granulometry and organic content) was analysed. Organism density did not affect survival but the presence of sediment in the assay chambers significantly reduced mortality. Amphipods were tolerant to a broad variety of sediment types, from sand to silt during a 10 day assay. Highest growth rates were obtained with a 1 : 1 mixed diet of* Ulva lactuca *and a commercial food. The 10 day LC 50s determined for copper spiked sediments were 6.8 and 56.7 mgCu/dry kg for sediments with 0.5 % FF /0.9 % TVS and 25 % FF /1.9 % TVS, respectively. No effect on survival was observed on the 75 % FF /7.1 % TVS sediment even at copper concentrations of 160 mg/dry kg.*

KEY WORDS : Amphipod - Toxicity - Sediment - Copper - Estuary.

RÉSUMÉ
(travail original)

SENSIBILITÉ D'UN AMPHIPODE MARIN VIS-À-VIS DES FACTEURS DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CUIVRE DANS LES SÉDIMENTS.
Dans ce travail, les potentialités d'utilisation pour des essais de toxicité, de l'amphipode Gammarus locusta *en tant qu'organisme test ont été étudiées. Sa sensibilité à des facteurs non toxiques de l'environnement et au cuivre dans des sédiments présentant une granulométrie et des teneur en matière organique différentes a été évaluée. La densité des organismes n'affecte pas leur survie, mais l'ajout de sédiment dans les enceintes expérimentales réduit significativement leur mortalité. Différents types de sédiment, allant du sable au limon, sont tolérés par les amphipodes pendant 10 jours. Les taux de croissance les plus élevés ont été obtenus avec un mélange 1 : 1 d'*Ulva lactuca *et d'un produit commercial. Le CL50 dix jours pour des sédiments contaminés au cuivre a été de 6,8 et 56,7 mg Cu/kg (poids sec), pour des sédiments présentant respectivement 0,5 % FF (éléments < 63µm)/0,9 % SVT (matière organique calcinable) et 25 % FF/1,9 % SVT. Dans des sédiments avec 75 % FF/7,1 % SVT la survie n'a pas été affectée, jusqu'à des concentrations de cuivre de 160 mg Cu/kg (poids sec).*

MOTS CLÉS : Amphipode - Toxicité - Sédiment - Cuivre - Estuaire.

INTRODUCTION

Owing to their ecological importance, numerical abundance, and sensitivity to a variety of toxicants and pollutants, amphipod crustaceans have long been known as sensitive environmental indicators (THOMAS, 1993).

Gammarus locusta inhabits unpolluted areas of the Sado estuary (Portugal) and is especially abundant in the late spring period, when it constitutes the bulk of the epizoobenthic biomass (our unpublished data). It can be easily reproduced in laboratory conditions and, consequently, individuals of different size classes are available all year round, regardless of their abundance in the natural environment. Preliminary tests demonstrated the sensitivity of *G. locusta* to copper, in acute exposures to seawater solutions of this metal and to naturally contaminated field sediments (RIBAU & COSTA, 1994).

Despite the number of amphipod sediment bioassays already standardized and currently used, employment of indigenous species is strongly recommended to ensure

* Manuscrit reçu le 6 février 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 1^er^ juillet 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

ecological relevance (CHAPMAN & LONG, 1983). Another recommendation concerns the assessment of pertinent biotic and abiotic factors that influence the test organism, as a crucial step in the development of toxicity tests (DEWITT *et al.*, 1992, THOMAS, 1993).

We are now developing a sediment toxicity test with *G. locusta.* We report here the initial research to describe *G. locusta*'s sensitivity to some selected non-contaminant variables (biotic and abiotic) and to copper spiked sediments. Copper was the selected contaminant since it is quantitatively the most important metallic contaminant in the Sado estuary.

MATERIAL AND METHODS

REARING AND BREEDING OF THE EXPERIMENTAL ANIMALS

G. locusta culture conditions are summarized in the table I. The amphipods were cultured in plastic microcosms with sediment collected from an unpolluted area of the Sado estuary (38° 27'N, 08 ° 43'W), referred to as control sediment (ASTM, 1992). The sediment layer was less than 1 cm deep and was periodically replaced. Small stones were placed in the aquariums to provide shelter and mimic the natural environment.

Male and female adult amphipods were kept together and reproduced continuously. Newborns were collected in a battery of screens during the water renewal and sieving process, that took place twice a week. The animals were grouped in four different size classes - 1 500 µm, 1 000 µm, 475 µm and 250 µm - adults, sub-adults, juveniles and newborns respectively, according to the mesh size. The diet was mainly based on the green macroalgae *Ulva lactuca* and *Ulva rigida*, maintained in the laboratory during field sampling intervals.

TABLE I.– Summary of culture conditions for *G. locusta*.
Résumé des conditions de culture pour G. locusta.

CULTURE CONDITIONS	
Temperature and salinity	room temp. (15 °C Winter, 20 °C Summer), 33-34 ‰
Photoperiod	12 hours light : 12 hours dark
Sediment	< 1 cm layer; coarse sand > 0.5 mm from Sado estuary clean reference sediment
Water	0.45 µm filtered seawater; ± 10 cm layer
Water change	static-renewal : 100 % vol. water change 2x/week
Aeration	airstone, constant bubbling
Density	20-30 organisms / dm^2
Feeding	*Ulva lactuca* and/or *Ulva rigida*, several times / week

GENERAL BIOASSAY PROCEDURES

All the assays reported here were conducted at 15±1 °C, with 0,45 µm filtered seawater of 33 ± 2 ‰ salinity. Aeration was provided for every test chamber with plastic tips placed at least 1 cm above the sediment surface. Dissolved oxygen in the overlaying water was at least 8 mg/l. The macrofauna was removed with a 1 500 µm screen prior to the placement of the sediment in the aquaria. The water content of the sediment was determined from the percentage of weight lost after drying for 12 hours at 90 °C. Sediment total volatile solids (TVS), an organic content approach, were estimated as percentage of weight lost after ignition of dry sediment at 550 °C for 4 hours. The granulometric analysis was conducted by mechanical sieving of the sediments through a set of sieves, after sample material disaggregation and dispersion. The control sediment properties remained practically constant and averaged 20% water content, 0.5% fine fraction (FF) and 0.9% TVS.

Assay animals were always laboratory produced juveniles (2-4 mm length class). Twenty-four hours before any experiment a sub-stock of juveniles was isolated from the main stock and kept at the assay temperature in freshly renewed water and with unlimited food.

In the first two experiments (1.1 and 1.2) plastic aquaria were used, each replicate receiving 400 ml of control sediment (≈1 cm deep layer) and 2 litres of seawater (≈ 5 cm deep).

The remaining assays (experiments 1.3, 2.1 and 2.2) were performed in 2 liter plastic beakers filled with approximately 1 cm of sediment and 800 ml of seawater and left with aeration until the next day. Twenty amphipods were randomly collected and allocated to each beaker. After 10 days the contents of the beakers were sieved through a 475 µm screen and survivors were counted.

Sensitivity of *G. locusta* to non-contaminant variables

The non-contaminant parameters tested were: a) organism density, in the presence or absence of sediment, b) type of diet and c) sediment particle size (along with the respective organic content). These parameters were selected according to former observations and preliminary assays with *G. locusta*.

Organism density and substrate type.– In this experiment we examined organism density and substrate type effects on survival and growth of *G. locusta*, within the typical period of time of an acute and chronic amphipod toxicity test (DEWITT *et al.*, 1992). The densities tested were 10, 20 and 40 animals per aquarium (about 2.5, 5 and 10 individuals/dm^2). These three densities were tested in triplicate, in the presence and in the absence of sediment. Small stones were introduced in each replicate at the ratio

Source : MNHN

of 1 stone per 10 animals. These stones had approximately the same size and were previously cleaned to remove any feeding substract present. The amphipods were group weighed per replicate at the beginning of the assay. Feeding was based on *Ulva rigida* discs (fresh) that were supplied proportionally to the number of amphipods. Water renewal took place at 10 day intervals. Water was sieved through a 475 µm screen and the living amphipods counted and returned to the test chambers. On the 28th day the number of living animals was recorded and their group weight determined.

Growth was determined for each replicate by subtracting the initial average weight of an individual to the final average weight. Production, *i.e.*, the increment in biomass, was calculated as the proportional increase in the biomass: (final biomass - initial biomass) / initial biomass.

Amphipod survival at the end of 10 days were compared in relation with density levels and substrate types using analysis of variance (2-way ANOVA).

A bi-factorial multivariate analysis of variance (2-way MANOVA) was performed with all the data obtained at the end of the experiment. Subsequently each one of the dependent variables was submitted to a bi-factorial univariate analysis of variance (2-way ANOVA) to determine which variable better explained the observed effects.

Data on average weight increase was subjected to a selection prior to the statistical analysis. The selection criteria was that replicates in which survival was lower than 80% were not considered for calculations. The reason for this pre-selection was to ensure that effects on growth were compared between treatments in which densities and thus the weight of food available per animal, which in turn would affect growth, did not vary substantially during the 4 weeks of the assay.

Prior to any analysis the data were tested for homogeneity of variances. In this case the multivariate test Box M could not be performed and so the Cochran test was used for each dependent variable, as suggested in a similar example by POTVIN *et al.* (1990). Post-hoc comparisons were performed using the Least Significant Difference test (LSD test) (*Statistica/Mac*™, 1991).

Type of diet.– A 4 week assay was conducted to determine the influence of the type of diet on *G. locusta* survival and growth. The three diet treatments tested were *U. lactuca* discs (fresh diet), TetraMin™ (dried diet), and a 1: 1 mixture of the two former diets. Five replicates per diet with 30 animals each were used. Two small stones, previously cleaned were placed in each replicate. Water replacement and food supply took place at 10 day intervals. It was decided not to measure the initial average weight since the previous assay (1.1) showed it was irrelevant and also because it avoided stressing the animals with live weighting operations. On the final experiment day (28th day) the number of living amphipods in each replicate was determined and their respective group weight measured. The average weight was used instead of the average weight increase. Production was calculated assuming that the initial average weight per animal was homogeneous and was the same as in the previous experiment (1.1).

The amphipod survival, growth and production were compared among diet types using a one-way MANOVA, followed by one-way ANOVAs for each dependent variable.

Sediment particle size and organic matter.– This experiment was undertaken to determine the 10 day survival of *G. locusta* in response to sediment particle size and organic content. Sediments with a range of FF and organic content were prepared by mixing the required proportion of FF of a clean organically enriched sediment with the control sediment. The resulting sediment types had 0.5, 25, 50, 75 and 100% FF (dry weight) and 1.7, 4.1, 7.6, 12,3 and 17.0% of TVS respectively. Three replicates were prepared for all treatments including the control sediment.

Effects of the sediment geochemical properties on survival were tested by one-way ANOVA.

SEDIMENT TOXICITY TESTS

Spiking procedure and chemical analysis

Spiking procedure was based on SWARTZ *et al.*, (1985) and HICKEY & ROPER (1992). The control sediment (coarse sand 0.5% FF; 0.9% TVS) was sieved through a 1500 µm screen to remove macrofauna and stored at 4 °C for 24 hours before the initiation of the contamination. The required volume of a stock solution of reagent grade copper chloride was directly added to the sediment in order to achieve the selected nominal concentrations. This was followed by 15 mn of vigorous mixing. The sediments were allowed to equilibrate overnight (15-20 hours) at 4 °C and were mixed again for 15 mn the next day.

The copper was extracted from subsamples of ground and dried sediment that was submitted to acid digestion (1: 4 HNO_3/HCl and HF) in teflon bombs. The copper concentration was measured by flame atomic absorption. A certified reference material – BCSS-1 was used to evaluate the accuracy of the analytical method. All the concentrations of copper in the sediment are expressed on a dry weight basis.

Reference toxicant control

The sensitivity to toxicants of the laboratory amphipod population was verified through a reference

Source : MNHN

toxicant control (DEWITT *et al.*, 1992). This control, also designated as "positive control", consisted in the determination of 96h LC 50 for cadmium in the seawater in the absence of sediment. The test solutions were prepared by dissolving a stock solution of reagent grade cadmium chloride in seawater (35 ‰ salinity). Nine nominal concentrations were tested within the range of 0.05 to 12.8 mg Cd /l.

Acute toxicity of copper in the sediment.– This experiment examined the *G. locusta* sensitivity to copper-spiked sediment in 10-day static exposures. Four nominal copper concentrations from 1.2 to 9.5 mg/dry kg were used. All treatments had 5 replicates for toxicity and one for chemical analysis. The control sediment received no toxic material but was manipulated as the spiked sediments. Twenty amphipods were randomly collected and allocated to each chamber. After 10 days the contents of the beakers were sieved through a 475 µm screen and survivors counted. Probit analysis was performed to determine the LC 50 values and 95% fiducial limits.

Interactions between copper and the fine fraction of a natural clean sediment.– The effects of the interactions between copper and fine sediment materials on sediment toxicity to *G. locusta* were examined on two selected sediment types with 25% FF / 1.9% TVS and 75% FF / 7.1% TVS. These sediment types were prepared following the procedure described in the experiment 1.3. Four nominal concentrations from 15 to 120 mg Cu/ dry kg were used. Each copper concentration was tested in quadruplicate. Two control treatments were used. One consisted in triplicates of the sediment types tested which were not copper spiked - the reference sediment control - and the other was a performance control with the control sediment, also in triplicate. The LC 50s were calculated as previously described (experiment 2.1).

RESULTS

ORGANISM DENSITY AND SUBSTRATE TYPE

The amphipod survival was generally high (> 90%), independently of the organism density and substrate type, within the period of time of a common acute sediment toxicity test (10 days).

The results of the 2-way MANOVA, applied to the 28 day assay data (FIG. 1) indicated that, density ($p < 0.05$), substrate ($p < 0.01$) and the interaction density x substrate ($p < 0.01$) had significant effects on the overall dependent variables. However the significant effects observed on survival were only due to the substrate type ($df = 12$, $p < 0.1$). For the average weight increase, the effects of the density, substrate and the interaction of density x substrate were significant ($df = 7$; $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.01$ respectively), as well as for the production ($df = 11$; $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.01$ respectively).

TYPE OF DIET

Survival was above 80% for all treatments, and was highest for the *U. lactuca* diet. Animals fed on the mixed diet had the highest average weight at the end of the 28 day assay (6.9 ± 0.8 mg/ind.), closely followed by the *U. lactuca* diet (5.3 ± 0.4 mg/ind.). Average weight for the TetraMin™ (2.3 ± 0.5 mg/ind.) diet was a third of the value registered for the first diet and less than half of the second (TAB. II).

The one-way MANOVA indicated that the type of diet produced significant effects on the measured parameters ($p < 0.01$), although these effects were much more significant on the average weight ($df = 12$, $p < 0.01$) and production ($df = 12$, $p < 0.01$) than they were on survival ($df = 12$, $p < 0.1$). Post-hoc comparisons revealed that average weight differed significantly between all treatments ($p < 0.01$) and that production differed significantly only between *U. lactuca* and the commercial food.

TABLE II.– *G. locusta* survival (%), average individual weight (mg) and production for three diet types during a 28 day assay (mean±standard deviation).

La survie (%), le poids moyen (mg) et la production du G. locusta, *pour trois types de nourriture après 28 jours de test (moyenne ± écart type).*

DIET TYPE	SURVIVAL (% ± SD)	AVERAGE WEIGHT (mg ± SD)	PRODUCTION (± SD)
Ulva lactuca	93±4.1	5.3±0.4	8.1±0.8
TetraMin®	85±8.7	2.3±0.4	2.6±1.1
1: 1 Mixture	83±7.6	6.9±0.8	9.6±0.9

SEDIMENT PARTICLE SIZE AND ORGANIC MATTER

The amphipod survival was generally high (> 90%) in all of the laboratory manipulated sediments. The variation of sediment particle size and the inherent alteration in the organic content did not affect amphipod survival ($df = 10$, $p > 0.1$) (TAB. III).

ACUTE TOXICITY OF COPPER IN THE SEDIMENT

The 96 h nominal LC 50 of cadmium in seawater (used as reference toxicant control) was 0.59 mg/l (95% confidence intervals: 0.43-0.82 mg/l).

The 10-day LC 50 of copper in sediment was 6.8 mg/dry kg (95% confidence intervals: 5.8-8.3 mg/dry kg), for a sediment with 0.5% FF and 0.9% TVS (FIG. 2).

Source : MNHN

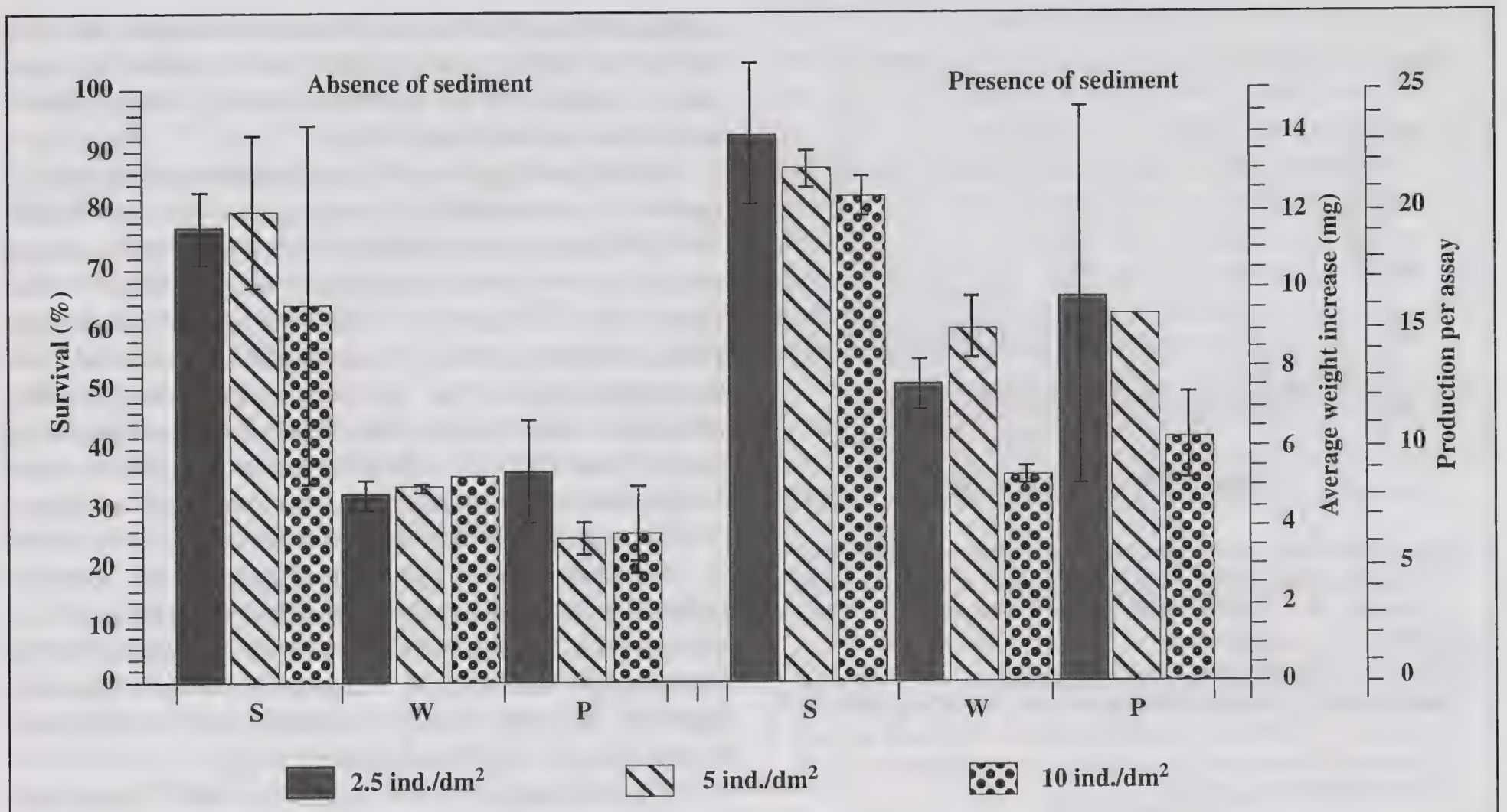


FIG. 1.– *G. locusta* survival (S), mean weight increase (W) and production. (P) for three organism densities (2.5, 5, 10 ind./dm^2) and two substrate types (absence /presence), at the end of a 28 day assay (mean ± standard deviation).

La survie (S), le poids moyen (W) et la production (P) du G. locusta, *pour trois densités d'organismes (2,5 ; 5 ;10 ind./dm^2) et pour deux types de substrat (absence/présence), après 28 jours de test (moyenne ± écart type).*

TABLE III.– *G. locusta* survival as a function of the sediment fine fraction (%FF) and organic content (% TVS) during a 10 day assay (mean ± standard deviation).

La survie du G. locusta *en fonction de la teneur en élements fins (% FF) et matière organique (% SVT) dans le sédiment après 28 jours de test (moyenne ± écart type).*

Fine fraction (%)	TVS (%)	Survival (%±SD)
0	1.7	98 ± 2.9
25	4.1	100 ± 0.0
50	7.6	100 ± 0.0
75	12.3	90 ± 0.0
100	17.0	98 ± 2.9

INTERACTIONS BETWEEN COPPER AND THE FINE FRACTION OF A NATURAL CLEAN SEDIMENT

The amphipod survival was only affected by copper contamination on the 25% FF/ 1.9% TVS sediment. The LC 50 was 56.7 mg Cu/dry kg (95% confidence intervals: 46.9-72.6 mg/dry kg). No copper toxic effects were observed on the 75% FF / 7.1% TVS sediment up to the maximum concentration tested of 160 mg/dry kg (FIG. 2).

Measured concentrations of copper, on both toxicity experiments, were close to 100% of nominal concentrations, considering the natural concentrations of 1.6, 4.6 and 37.6 mgCu/dry kg for 0.9, 1.9 and 7.1% TVS in the unspiked sediments.

DISCUSSION

This study revealed that the amphipod *G. locusta* is sensitive to some non-contaminant variables on long-term (chronic) assays. On a 10 day period, no significant effects on survival were detected in response to density/substrate type or sediment particle size/organic content. Thus, acute sediment toxicity tests can be performed at the density of 10 ind/dm^2 without endangering the minimum acceptable average survival of the control - 90% (ASTM, 1992). The fact that the amphipods were fed during the density experiment might affect this observation, since on acute toxicity tests no food is provided. Nevertheless the acute toxicity tests described in this article were conducted successfully at that density.

As density did not affect survival, the highest density could also be used for the chronic assays, assuming that a control average survival superior to 80% is the minimum acceptable for an amphipod chronic test, as suggested by DEWITT *et al.* (1992). However, the results showed that, on chronic assays, density affected average weight and

Source : MNHN

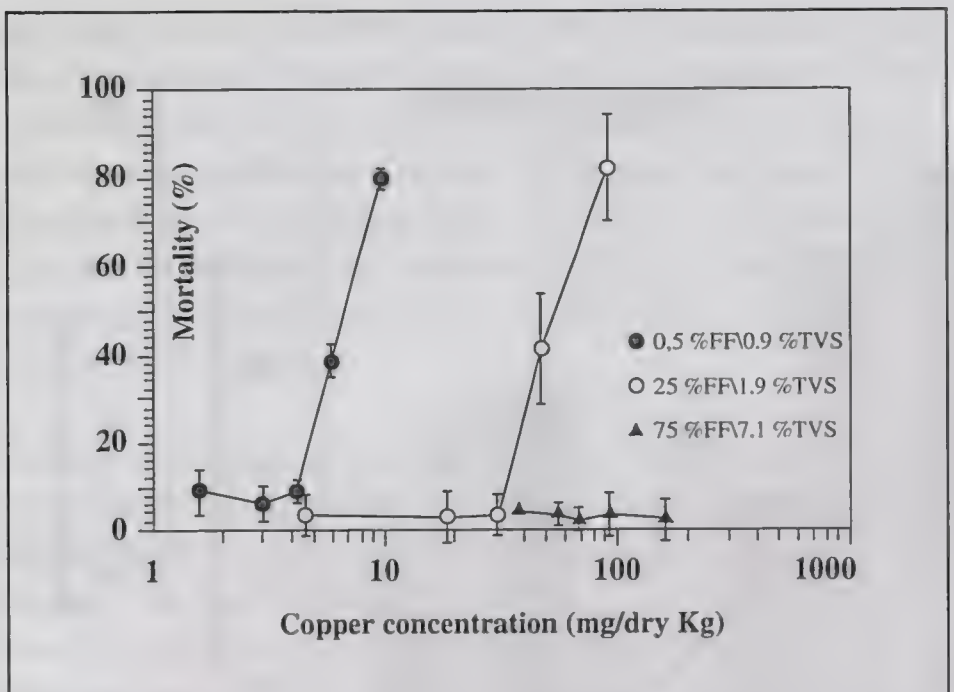


FIG. 2.– Mortality on copper spiked sediments as a function of the sediment fine fraction (% FF) and organic content (% TVS) at the end of a 10 day assay (mean ± standard deviation). Results from experiments 2.1 and 2.2 were plotted together.

Mortalité pour le test du sédiment contaminé au cuivre, en fonction de la teneur en éléments fins (% FF) et matière organique (% SVT) du sédiment après 10 jours de test (moyenne ± écart type). Les résultats des expériences 2.1 et 2.2 sont présentés ensemble.

production. Selecting the appropriate organism density to conduct chronic tests it is thus necessary in order to establish a compromise between the species optimum conditions and assay viability in terms of logistics and statistical analysis of the results. We arrived at the compromise of an intermediate density of 7.5 ind./dm^2, which was the density selected for the diet type experiment.

The absence of sediment in the aquaria appears to be an additional stressing factor that increased the mortality in the chronic assay. This mortality was mainly due to cannibalism, a behavior long known in gammaridean amphipods, occuring especially when there is a victim at a disadvantage, for example in an exhausted condition following a moult (SEXTON, 1928). The presence of sediment significantly reduced *G. locusta* mortality presumably because it provided a sheltered environment and reduced the probabilities for cannibal behavior. The sediment also seemed important as a food source, since *G. locusta* feeds on sediment detritic materials and possibly on its microflora. This would help to explain the higher growth rates obtained in the presence of sediment. The stones probably also contributed to reduce mortality, but this was a constant factor since they were present in every treatment and their number was proportional to the number of amphipods. PESCH & MORGAN (1978 *in* SWARTZ *et al.*, 1985) have demonstrated that the absence of sediment can affect the behaviour of benthic animals and eventually increase their sensitivity to toxicants. Although the effect of the absence/presence of sediment in the aquaria was more significant than the density effect, it is unlikely that this factor had major consequences in the short-term tests results, such as the 96h reference toxicant control, where control survival was high (95%).

Understanding the nutritional requirements of the test species is important in toxicity assays (LUOMA & HO, 1993). Food supplied during *G. locusta* chronic assays should not be based exclusively on TetraMin™. The significant differences found on average weight and production between *U. lactuca* and commercial feed treatments suggest that the latter is not so nutritionally efficient as the *U. lactuca* diet. This is somehow surprising since TetraMin™ is a diet currently used for several amphipods, either included in a mixture, such as "gorp" (DEWITT *et al.*, 1992) or as an exclusive diet (BORGMANN & MUNAWAR, 1989). The main reason for the observed differences seems to be the food status, *i.e.* alive and fresh (*U. lactuca)* versus artificial and dried (TetraMin™). However, the fact that a 1: 1 mixture of the diets led to the highest growth rates implies that they have complementary nutritional properties.

These findings could be applied to an *U. rigida* diet. This algae species was the single diet used in the previous experiment (1.1) and led to growth rates identical to those observed with *U. lactuca*. For amphipod rearing and breeding, a diet based on *Ulva spp.* occasionally complemented with a commercial feed seems to be appropriate. To conduct chronic assays a mixed diet might introduce additional variability, and a diet solely based on *Ulva spp.*, seems preferable in this case. The effects detected on survival, although not as expressive as on growth, may be explained by the specificity of the habitat requirements and behavior of the amphipods. The algae *U. lactuca* is part of the natural environment of these animals and is used simultaneously as a food source and as substrate on which to hang or lie, or behind which to hide, activities impossible with the commercial feed. This is yet another reason to conduct chronic assays using *Ulva spp.* only.

Another consideration involving chronic assays concerns the selection of the endpoints or response criteria. Survival had the least sensitive endpoint in all assays. The average weight and production were equally sensitive, except in some occasional post-hoc comparisons. However average weight has to be cautiously interpreted in assays with significant mortality, which is not the case with the production since it integrates the variability due to mortality. According to the results of this study, the three endpoints, taken together, may be a useful tool for chronic toxicity tests.

Screening the effects associated with natural sediment features on assay organism responses is a priority for the correct interpretation of sediment toxicity tests. Sediment particle size (along with organic content) effects on

Source : MNHN

survival have been observed in several amphipod species used in toxicity tests (DEWITT *et al.*, 1988, HICHEY & ROPER, 1992) but, according to the results of the experiment 1.3., this is not the case with *G. locusta*. Data from control treatments of the second copper toxicity experiment confirm this generalist behaviour, as observed on the burrowing amphipod *Leptocheirus plumulosus* which can be found in a wide range of sediment types, from mud or detritus to sand (DEWITT *et al.*, 1992). The results thus indicate that sediment particle size and organic matter will not interfere on the control survival in toxicity tests performed with *G. locusta*. However, these findings are only valid for acute tests. The effects of sediment features during a chronic exposure have not yet been assessed but, since *G. locusta* feeds on sediment raw materials, a response to organic enrichment may be expected.

No background information was found in the literature about *G. locusta's* sensitivity to contaminants. In this study, first indications were obtained from the cadmium toxicity test performed as a reference toxicant control. LC 50 values determined for other marine amphipod species ranged between 0.79 and 11.4 mg Cd/l at 15 °C and 28‰ salinity (DEWITT *et al.*, 1992). According to the preliminary LC 50 (0.59 mg Cd/l) determined for *G. locusta* in this study, it appears to be a highly sensitive species.

Comparison of the *G. locusta* LC 50 for copper spiked sediments with values determined for other related amphipod species are not possible considering the scarcity of studies in which the toxicity of this metal is assessed in similar conditions (temperature, salinity and sediment features). In fact, we obtained an 8 fold increase in the LC 50 value just by increasing the fine fraction and organic content of a sediment from 0.5% FF /0.9% TVS to 25% FF /1.9% TVS, and a concentration as high as 160 mgCu/dry kg did not affect survival on the 75% FF /7.1% TVS sediment. Moreover the natural copper concentration of this sediment was 37.6 mg/dry kg, which would be lethal in a 0.5% FF /0.9% TVS sediment. These results are not unexpected, considering that the metal binding capacity of the sediment components is known to reduce contaminant bioavailability (SWARTZ *et al.*, 1985) and thus interfere in the toxic responses.

The effects of sediment properties on the toxic responses can be gauged by normalization of the chemical concentrations of contaminants in the sediment. Normalization to acid volatile sulfide (AVS) is usually suggested for metals (DI TORO *et al.*, 1992; ALLEN *et al.*, 1993; ASTM, 1993). However some authors recommend caution on the use of this factor of normalization (BOURGOIN *et al.*, 1991 *in* LUOMA & HO 1993), especially with copper (ALLEN *et al.*, 1993).

Normalization to total organic carbon (TOC) is used primarily for organic compounds (ASTM, 1993), but it has also been used for metals and particularly for copper (CATO, 1990 *in* BOUTIER & ALZIEU, 1991). Although no measurements of the TOC in the sediments were made, this may be obtained from the TVS value, assuming that the TOC was approximately 45% of the organic content (TVS), as estimated in the U.S.A. salt marshes (NIXON, 1980 *in* QUINTINO, 1988). The resulting normalized LC 50s were closer - 1.7 mg Cu/ gC and 6.6 mg Cu/ gC, but there was still a 4 - fold difference between them. This indicates that, in the tested sediments copper toxicity cannot be explained solely by the TOC content.

Future experiments should be conducted with a broader range of sediment types and with several factors of normalization in order to clarify the relationships between copper - sediment geochemistry interactions and toxicity.

ACKNOWLEDGMENTS

F.O. COSTA and A.D. CORREIA work was supported by the PRAXIS XXI program - grants BM/2390/94 and BM/2391/94 respectively.

REFERENCES

ALLEN, H.E., FU, G. & DENG, B., 1993.– Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12: 1441-1453.

ASTM, 1992.– Standard guide for conducting 10-day static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods. E1367-90. *In:* Annual Book of ASTM Standards, Water and Environmental Technology. Vol 11.04. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA: 1138-1163.

ASTM, 1993.– Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. E 1383-93. *In:* Annual Book of ASTM Standards, Water and Environmental Technology. Vol 11.04. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA: 1173-1199.

BORGMANN, U. & MUNAWAR, M., 1989.– A new standardized sediment bioassay protocol using the amphipod *Hyalella azteca* (Saussure). *Hydrobiologia*, 188/189: 425-43.

BOUTIER, B. & ALZIEU, C., 1991.– Les contaminants des sédiments littoraux: Les niveaux et leur signification. *In:* Congrès International, L´écotoxicologie des sédiments, Society D´Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquee (SEFA), La Rochelle: 20 p.

CHAPMAN, P.M. & LONG, E.R., 1983.– The use of bioassays as part of a comprehensive approach to marine pollution assessment. *Mar. Poll. Bull.*, 14: 81-84.

DEWITT, T.H., DITSWORTH, G.R. & SWARTZ, R.C., 1988.– Effects of natural sediment features on survival of the phoxocephalid amphipod, *Rhepoxinius abronius*. *Mar. Environ. Res.*, 25: 99-124.

DEWITT, T.H., REDMOND, M.S., SEWALL, J.E. & SWARTZ, R.C., 1992.– *Development of a chronic sediment toxicity test for marine benthic amphipods.* U.S. Environmental Protection Agency for the Chesapeake Bay Program, Newport: 99 p.

DI TORO, D. M., MAHONY, J.D., HANSEN, D.J., SCOTT, K.J., CARLSON, A.R. & ANKLEY, G.T., 1992.– Acid volatile sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in

Source : MNHN

sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 96-101.

HICHEY, C. W. & ROPER, D.S., 1992 - Acute toxicity of cadmium to two species of infaunal marine amphipods (tube-dwelling and burrowing) from New Zealand. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 49: 165-170.

LUOMA, S.N. & HO, K.T., 1993.– Appropriate uses of marine and estuarine sediment bioassays. *In:* CALOW, P. (ed.), *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 193-226.

POTVIN, C., LECHOWICZ, M. & TARDIF, S., 1990.– The statistical analysis of ecophysiological response curves obtained from experiments involving repeated measures. *Ecology*, 4: 1389-1400.

QUINTINO, V.M.S., 1988.– *Structure cinétique comparée des communautés de macrofaune benthique de deux systèmes lagunaires de la côte ouest du Portugal: Obidos et Albufeira.* Thèse de Doctorat ès Sciences, Université de Paris VI: 333 p.

RIBAU, M. & COSTA, M.H., 1994.– *Gammarus locusta* (amphipoda) como indicador de meios litorais contaminados. Dados preliminares. *In: Actas da 4 º Conferência Nacional de Qualidade do Ambiente*, 1: 116-125.

SEXTON, E.W., 1928.– On the rearing and breeding of *Gammarus* in laboratory conditions. *Journ. Mar. Biol. Assoc., New series*, I, 20: 33-54.

STATISTICA/MAC™, 1991.– User´s Guide. STATSOFT, Inc. Tulsa, U.S.A: 410 p.

SWARTZ, D.C., DITSWORTH, G.R., SCHULTS, D.W., & LAMBERSON, J.O., 1985.– Sediment toxicity to a marine infaunal amphipod: Cadmium and its interaction with sewage sludge. *Mar. Environ. Res.*, 18: 133-153.

THOMAS, J. D., 1993.– Biological monitoring and tropical diversity in marine environments: a critique with recommendations, and comments on the use of amphipods as bioindicators. *Journal of Natural History*, 27: 795-806.

VERSION FRANÇAISE ABRÉGÉE

Du fait de leur importance écologique, leur abondance et leur sensibilité vis-à-vis d'un large spectre d'éléments toxiques et polluants, les crustacés amphipodes sont considérés depuis longtemps comme des indicateurs sensibles aux conditions du milieu. Des études préliminaires avec l'amphipode *Gammarus locusta* ont mis en évidence ses potentialités en tant qu'organisme test (RIBAU & COSTA, 1994). Cet amphipode colonise des zones non polluées de l'estuaire du Sado (Portugal). De reproduction facile en laboratoire, il y est disponible pendant toute l'année, indépendamment des conditions de son milieu naturel.

Les conditions d'élevage (TAB. I) et les manipulations concernées sont décrites. Tous les essais ont été développés à 15 ± 1 °C et avec de l'eau de mer filtrée (0,45µm) et aérée, de salinité 33±2 g. kg^{-1}. Le sédiment utilisé dans l'élevage et le sédiment témoin des expériences ont été récoltés dans la zone de sédiment propre colonisée par *G. locusta*. Le sédiment témoin a conservé de manière plus ou moins constante ses caractéristiques : - 20 % teneur en eau, 0,5 % d'éléments fins, < 63µm (FF) et 0,9 % de matière organique calcinable (SVT).

Les organismes utilisés dans les expériences sont toujours des juvéniles (classe 2-4 mm) nés au laboratoire. Deux types d'expériences ont été développés : 1. Réponse du *G. locusta* à des variables de l'environnement. 2. Détermination de la toxicité des sédiments. Dans le premier cas, plusieurs paramètres ont été testés : densité des organismes, en présence ou absence de sédiment (test aigu - 10 jours et test chronique - 28 jours); type de nourriture (test chronique); granulométrie du sédiment (associée à diverses teneurs en matière organique) (test aigu). La survie, la croissance et la biomasse ont été les paramètres pris en compte. En ce qui concerne les tests de toxicité, la préparation et la contamination des sédiments sont décrites. La teneur totale en cuivre a été mesurée en spectrophotométrie d'absorption atomique. Le matériel de référence BCSS-1 a été utilisé. La sensibilité de la population aux toxiques a été toujours vérifiée par un contrôle positif (96 h CL_{50} pour le cadmium en eau de mer).

Deux expériences ont été développées ; un test de toxicité du cuivre dans le sédiment et un test pour évaluer les effets des teneurs en FF et SVT sur la toxicité du cuivre.

Les premières séries d'expériences ont démontré que pour des périodes de 10 jours aucune réponse aux facteurs densité, substrat et granulométrie/teneur organique, n'a été observée sur la survie. De ce fait, il est possible d'utiliser des densités de 10 ind/dm^2 dans des tests aigus de toxicité de sédiments. Dans des tests chroniques, bien que la densité n'ait pas affecté la survie, elle a affecté le poids moyen et la production. Pour cette raison, on a choisi une densité de 7,5 ind/dm^2, pour des tests de nourriture. L'absence de sédiment s'est présentée comme un facteur supplémentaire de stress qui a augmenté la mortalité des organismes dans des tests chroniques. Cette mortalité est surtout le résultat du cannibalisme, bien connu chez les Gammaridés. Ainsi, l'absence de sédiment peut affecter le comportement des animaux benthiques et donc peut augmenter leur sensibilité aux toxiques.

La nourriture fournie dans des essais chroniques ne doit pas être exclusivement du TetraMin™ (nourriture commerciale). Les différences significatives trouvées entre les traitements, en ce qui concerne les paramètres poids moyen et production, suggèrent que cette nourriture ne serait pas aussi nourrissante que l'algue *Ulva lactuca*. Néanmoins, le mélange de ces deux aliments en proportion égale (1 : 1) conduit au taux de croissance le plus élevé, ce qui peut s'expliquer par l'introduction d'une diversité alimentaire et par la présence de caractéristiques nourrissantes complémentaires.

Les données du test concernant l'effet granulométrie/teneur organique, ainsi que ceux de la deuxième expérience de toxicité du cuivre, ont démontré que le facteur granulométrie ne peut pas être responsable de la mortalité observée en tests de toxicité avec cette espèce ; *G. locusta* présente donc un comportement généraliste pour ce qui concerne le type de sédiment.

Dans des tests de toxicité chronique, les critères de réponse pris en compte sont d'une importance primordiale. En fonction des résultats obtenus, on peut considérer que les trois réponses étudiées, prises simultanément, peuvent constituer un critère utile pour ce type de test.

Aucune information n'a été rencontrée sur la sensibilité de *G. locusta* aux toxiques. La CL_{50} pour le cadmium, chez d'autres amphipodes varie entre 0,79 et 6,9 mg Cd/l à une température de 15 °C et une salinité de 28 ‰ (DEWITT *et al.*, 1992). En fonction des résultats obtenus, CL_{50} de 0,59 mg Cd/l, dans des conditions expérimentales similaires, *G. locusta* semble être une espèce très sensible. L'enrichissement du sédiment en FF et SVT, de 0,5 % FF/0,9 % SVT à 25 % FF/1,9 % SVT a déterminé un accroissement de la CL_{50} pour le cuivre d'environ 8 fois. Aucun effet n'a été observé dans le sédiment avec 75 % FF/7,1 % TVS pour l'ensemble des concentrations testées, dont la plus grande a été de 160 mgCu/kg P.S. Ces résultats ne sont pas surprenants si l'on considère que certains composantes géochimiques d'un sédiment sont douées d'une forte affinité pour les contaminants métalliques, limitant la biodisponibilité des contaminants (SWARTZ *et al.*, 1985) et diminuant de ce fait leur toxicité. Les CL_{50} obtenus, normalisés au carbone organique, ont montré que, la toxicité du cuivre ne peut pas être expliquée uniquement par la teneur en carbone organique total au moins pour les sédiments testés ici.

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 277-283

LICHENS ET BIOINDICATION : RÉALISATIONS CONCRÈTES ET EXIGENCES ÉTHIQUES*

Michel LEROND[1], Chantal VAN HALUWYN[2] & Damien CUNY[2]

[1]*Le Point du Jour, 76780 Sigy-en-Bray, France.*
[2]*Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, laboratoire de Botanique, 3, rue du Professeur Laguesse, BP 83, 59006 Lille Cedex, France.*

SUMMARY
(review paper)

LICHENS AND BIOINDICATION: PRACTICAL APPLICATIONS AND ETHICAL COMMENTS.
Since the end of the sixties, lichen bioindication has made great progress. Although researchers still have many questions to answer, bioindication has become a reliable tool acknowledged by planners and decision-makers concerned with pollution assessment.
As the potentialities of lichen bioindication are recognized, there is a growing demand for its use in communication and teaching.

KEY WORDS : Lichen - Bioindication - Air quality - Communication.

RÉSUMÉ
(article de synthèse)

Depuis la fin des années 1960, la bioindication lichénique a accompli d'importants progrès. Même si la recherche doit encore combler certaines lacunes dans les connaissances, la bioindication est devenue un outil fiable et reconnu par les aménageurs et décideurs pour estimer certains paramètres de l'environnement, en particulier celui de la qualité de l'air.
Face à ces potentialités diversifiées, les attentes des donneurs d'ordre évoluent et la demande se fait plus pressante d'utiliser la bioindication comme instrument de sensibilisation du public et vecteur de communication.

MOTS CLÉS : Lichen - Bioindication - Qualité de l'air - Communication.

SYNTHÈSE DES TRAVAUX FRANÇAIS

En France, la bioindication lichénique démarre effectivement avec les travaux de VINCENT (1968) sur la ville de Toulouse, soit près d'un siècle après les premières observations de NYLANDER (1866) sur la disparition des lichens épiphytes de Paris en raison d'une "mauvaise salubrité de l'air".

Jusqu'en 1980, la pollution atmosphérique peut être qualifiée de simple, même si on parle très souvent de pollution aiguë. Les polluants primaires sont bien définis, facilement mesurables et de sources bien localisées. Le dioxyde de soufre est le polluant majeur caractérisé comme traceur de la pollution atmosphérique, rien d'étonnant à ce que les lichens soient utilisés pour cartographier la pollution dans les régions où sévit le plus ce polluant : nord de la France (DELZENNE-VAN HALUWYN, 1973), Normandie orientale (LEROND, 1975), complexe industriel de Fos-sur-Mer (RIEUX, 1977), Région Parisienne (DERUELLE, 1978). La plupart de ces travaux ont recours à

* Manuscrit reçu le 20 mars 1996 ; version révisée acceptée pour publication le 5 juillet 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

une correspondance entre différentes espèces de lichens épiphytes et un intervalle ou un seuil de concentration en SO_2. Précisons que ces techniques d'évaluation n'ont pas recours aux lichens en tant que bioindicateurs négatifs, elles s'appuient sur la présence effective des espèces et non sur leur absence. DELZENNE-VAN HALUWYN (1973), LEROND (1975), adaptent l'échelle semi-quantitative élaborée par HAWKSWORTH et ROSE (1970) en Grande-Bretagne; RIEUX (1977) observe les altérations macro- et microscopiques des thalles en place. DERUELLE (1978) applique l'indice de pollution atmosphérique mis au point par LEBLANC et DE SLOOVER en 1970.

A cette époque, le fluor est un polluant majeur dans certaines régions et fait l'objet d'évaluation à l'aide des lichens dans certaines vallées alpines (ASTA, 1980, ASTA et GARREC, 1980, BELANDRIA et ASTA, 1987, BELANDRIA *et al.*, 1991), dans des forêts normandes (AUREAU et BEDENEAU, 1974, BEDENEAU, 1982).

La période post 1980 voit de profondes modifications dans le type, les sources et la diffusion des polluants. La part relative du dioxyde de soufre est devenue moindre (BELANDRIA, 1985, BELANDRIA & ASTA, 1986), la situation de la pollution atmosphérique est de plus en plus complexe et les autres facteurs environnementaux jouent un rôle non négligeable sur la présence ou l'absence des lichens épiphytes. Toutes ces raisons conduisent VAN HALUWYN & LEROND (1986) à mettre au point une méthodologie basée sur l'observation des communautés épiphytes capable d'apprécier un niveau de pollution globale et de prendre en compte les conditions écologiques et climatiques locales.

C'est l'époque où l'on médiatise beaucoup le "dépérissement forestier", LEGRAND s'est intéressée aux relations qui pouvaient exister entre la végétation lichénique corticole, les caractéristiques physico-chimiques des écorces et le dépérissement des arbres au sein de l'écosystème forestier (LEGRAND, 1991, LEGRAND & ASTA, 1995).

Les techniques agricoles modernes amplifient la pollution due aux nitrates ce qui donne lieu à une étude de DERUELLE *et al.* (1979) sur le recouvrement de la basilique Notre-Dame de l'Épine (Marne) par des communautés lichéniques nitrophiles.

Ces années post 1980 marquent la prise de conscience de la pollution d'origine automobile et en particulier de l'émission de quantités importantes de plomb dans l'environnement. DERUELLE (1983) étudie l'impact de l'autoroute A_6 sur le massif forestier de Fontainebleau en dosant le plomb dans des thalles de lichens *in situ* et après transplantation. Ce type d'étude, reconduit actuellement, permet d'apprécier l'effet positif des mesures prises par l'utilisation de l'essence sans plomb (DERUELLE, 1995 a et b).

A la fin des années 1980, la diminution de la pollution atmosphérique par le SO_2 est telle que l'on assiste à une "recolonisation" lichénique de villes ou de régions délaissées par les lichens : c'est le cas de la Haute Normandie orientale (LEROND, 1990), de la Région Parisienne (DERUELLE & GUILLOUX, 1993; LETROUIT *et al.*, 1992), de la région Lilloise (AREMALRT, réseau de mesures de la pollution atmosphérique de la Communauté Urbaine de Lille, 1995). Pour cette dernière région, l'étude a permis de mettre en évidence les corrélations étroites qui existent entre certaines espèces de lichens et la présence d'espaces verts, de sites d'intérêt écologique, la densité de population et de trafic : un "effet-ville" que l'on peut appréhender par la végétation lichénique. L'effet-ville suscite de plus en plus d'études, parmi celles-ci, VINCENT (1990) propose d'utiliser les modifications affectant chez les lichens la distribution des métabolites et la protéogenèse comme biotests de la qualité de l'air.

Le milieu marin n'échappe pas à la pollution qui peut parfois revêtir des aspects très critiques. ROUX et SIGOILLOT (1987), ont démontré l'avantage des lichens sur la végétation phanérogamique pour la mise en évidence d'une pollution par les aérosols marins.

Mais quelle que soit l'époque, on n'échappe pas aux grandes catastrophes écologiques. Celle de l'Amoco Cadiz en 1978 a eu des conséquences préjudiciables sur la végétation lichénique saxicole intertidale bretonne (LALLEMANT & VAN HALUWYN, 1981).

Contrairement aux autres pays européens, la catastrophe de Tchernobyl en 1986 a suscité peu de travaux français. On peut citer quelques analyses effectuées à l'initiative de la CRII-RAD (Commission de Recherche et d'Information Indépendante sur la Radioactivité), l'ACRO (Association de Contrôle de la Radioactivité dans l'Ouest) où l'Observatoire Mycologique.

De cet aperçu très rapide sur la bioindication lichénique en France, on retiendra le point suivant essentiel : les lichénologues français ont su adapter leurs travaux à l'évolution de la situation de la pollution tout en intégrant l'évolution des connaissances scientifiques.

RÉALISATIONS CONCRÈTES

LES CARTOGRAPHIES RÉGIONALES OU LOCALES

Une première cartographie établie sur le Parc Naturel Régional de Brotonne en 1975 (LEROND) a été progressivement élargie à toute la Haute Normandie en 1981 (LEROND) : environ 1 750 stations ont été étudiées. Dès lors, un suivi assidu de cette cartographie de base a été effectué tous les deux ans à la demande des réseaux de mesure Air Normand et de l'Office National des Forêts. L'Office National des Forêts met son personnel technique à disposition pour les forêts domaniales. Deux types de placettes ont été retenus pour ce suivi : les placettes de milieu ouvert, (environ 150 au départ) et les placettes

Source : MNHN

ONF, (une soixantaine). L'enseignement de ce suivi est que la pollution de l'air a globalement régressé en quinze ans, notamment sur la Basse Seine. Toutefois, des îlots fortement pollués subsistent sur les agglomérations de Rouen, Le Havre et le complexe industriel de Port-Jérôme. Bien que des signes de recolonisation lichénique soient très encourageants, la pollution de fond en milieu rural semble stagner (FIG. 1).

En région Nord-Pas-de-Calais, la première carte date de 1973 et concernait à l'époque les trois départements Nord, Pas-de-Calais et Somme. Depuis cette date, trois suivis ont été réalisés en 1978, 1986 et 1992. La pollution a régressé de façon notoire, mais stagne toujours au niveau des agglomérations de Lille, Roubaix, Tourcoing, Valenciennes et de certaines zones du bassin minier. Toutefois, un examen minutieux permet d'observer dans ces sites des stades juvéniles de lichens foliacés et fruticuleux poléosensibles, signes d'une restauration en cours. C'est ce qu'a permis de mettre en évidence une carte réalisée dans la communauté urbaine de Lille (612 km^2, 87 communes) à la demande du réseau de mesure de pollution de Lille (AREMALRT, 1995). Un tel travail a permis de conforter la complémentarité des informations fournies conjointement par un réseau de mesures et par la bioindication lichénique. A l'initiative du Secrétariat Permanent pour la Prévention des Pollutions Industrielles du-Littoral Calais-Dunkerque (SPPPI), une carte de la qualité de l'air basée sur l'observation de la végétation lichénique a également été réalisée sur le littoral en 1995.

APPORT DE LA BIOINDICATION LICHÉNIQUE À D'AUTRES PROBLÉMATIQUES

La bioindication lichénique peut répondre à l'attente d'entreprises pour expertiser dans le cas de conflits de voisinage par exemple, ou de bureaux d'études et divers partenaires intéressés par un diagnostic de la qualité de l'air.

Elle peut également apporter son concours à d'autres problématiques comme les études d'impact (état initial de la qualité de l'air), les bilans écologiques (les lichens sont indicateurs de biodiversité), le suivi d'une pollution (les lichens sont des bioaccumulateurs) ou même l'évaluation des plans et programmes (les lichens sont des indicateurs globalisant).

Parmi de nombreux exemples d'application, en voici quelques uns des plus pertinents :

• 1995 : PROJET PILOTE SUR L'UTILISATION DE BIOINDICATEURS DE LA POLLUTION ATMOSPHÉRIQUE DANS LES ZONES URBAINES (EC-DG XI) : La ville de Lille figure parmi les dix villes chargées de mettre en place ce programme dans lequel les contractants envisagent d'intégrer les lichens *in situ* et après transplantation dans le réseau de bioindicateurs végétaux proposés par la CEE.

• 1994 : DIAGNOSTIC ÉCO-LICHÉNIQUE DE LA QUALITÉ DE L'AIR POUR UNE ENTREPRISE D'APPAREILLAGE ÉLECTRIQUE PRES DE ROUEN : La demande est formulée dans le cadre de la mise en place d'un système de management environnemental (Eco-audit). La méthodologie appliquée est le diagnostic éco-lichénique de la qualité de l'air sur un périmètre large autour de l'usine avec 52 stations visitées. Les résultats consistent en une cartographie de la qualité de l'air du secteur et la détermination de 15 placettes de suivi. Les limites en sont le manque de connaissance qualitative de la pollution, de sa quantification sommaire et l'impossibilité de différencier les impacts entre deux usines voisines.

• 1992 : ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE SUR L'AGGLOMÉRATION ROUENNAISE.– Il s'agit d'une enquête sur l'incidence de la pollution de l'air sur les jeunes enfants, effectuée par la DDASS, avec l'Observatoire Régional de la Santé et Air Normand. La même méthodologie est appliquée et accompagnée d'actions pédagogiques de sensibilisation des enfants et de formation des enseignants.

Les résultats : l'actualisation de la cartographie de la qualité de l'air, la formation des instituteurs sur le site de deux écoles et la sensibilisation des enfants en forêt et à l'école. Les limites : l'intervention réduite à des transects pour des raisons de moyens, la coordination sommaire entre les partenaires et l'exploitation partielle des résultats.

• 1992 : OBSERVATOIRE ÉCOLOGIQUE DE ROGERVILLE.– A l'occasion de la mise en place d'un observatoire écologique autoroutier par la Société des Autoroutes Paris - Normandie (SAPN) sur l'autoroute A_{29}, des observations sont mises en œuvre sur 35 stations, ainsi que la cartographie de la qualité de l'air du secteur et la détermination de quinze placettes de suivi. Les limites résident surtout dans la difficulté de pérenniser ces placettes au niveau des ouvrages d'art et d'assurer une protection totale des arbres pendant le chantier.

LE CAS PARTICULIER DES AUTOROUTES

La Société des Autoroutes du Nord et de l'Est de la France a confié à VAN HALUWYN & CUNY l'étude de l'impact sur l'environnement des émissions imputables au trafic routier de l'autoroute Lille-Paris. Cet axe routier est l'une des voies principales de transit entre le nord et le sud de l'Europe et l'une des plus fréquentées de France. Cette étude utilise les lichens selon trois axes de recherche :

- étude des groupements lichéniques épiphytes de 12 stations de repos sur un tronçon défini par la Société des Autoroutes du Nord et de l'Est de la France (SANEF) et ce, dans le but de déterminer un indice de qualité globale de l'air ;

Source : MNHN

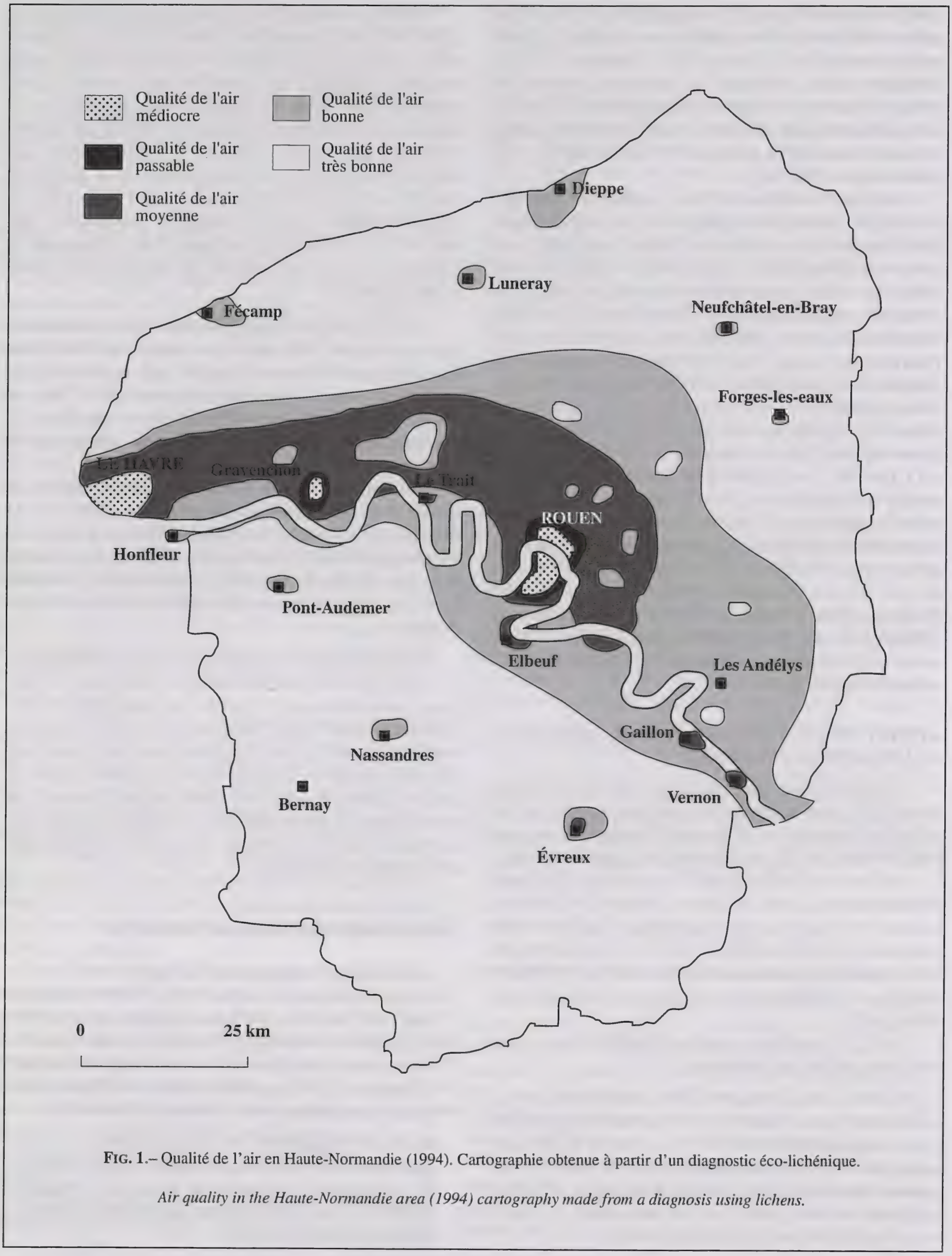


FIG. 1.– Qualité de l'air en Haute-Normandie (1994). Cartographie obtenue à partir d'un diagnostic éco-lichénique.

Air quality in the Haute-Normandie area (1994) cartography made from a diagnosis using lichens.

Source : MNHN

- dosages du plomb, du zinc et du cadmium dans les thalles des lichens *in situ* de ces aires de repos ;
- des expériences de transplantation afin d'évaluer la cinétique d'accumulation de ces éléments traces dans les thalles.

Ces travaux ont pour finalité de donner une information qualitative et semi-quantitative des émissions des xénobiotiques par le trafic routier afin de modéliser leur dispersion dans l'environnement.

ATTENTES NOUVELLES DES DÉCIDEURS

LA SENSIBILISATION DU PUBLIC

Pour l'information du public sur ces questions, de nombreuses conférences ont été sollicitées ainsi que des sorties sur le terrain. En formation initiale, ce thème est exploité à tous les niveaux, de l'école élémentaire à l'Université, ce qui nous permet de découvrir combien le jeune public peut être réceptif à cette pédagogie active qui est celle de la mise en relation de la biologie et de la pollution.

Mais la demande va plus loin et concerne même la formation continue. Les interventions sont plus limitées, mais elles se sont produites à plusieurs reprises pour des enseignants du secondaire ou des cadres de l'industrie et des assurances.

LA BIOINDICATION LICHÉNIQUE, VECTEUR DE COMMUNICATION

Force est de constater que les lichens, êtres "magiques" disent les enfants, fascinent le public comme les journalistes ou des partenaires divers.

La bioindication lichénique est en effet une occasion de partenariat avec les Universités, les collectivités territoriales, les administrations et organismes divers comme avec les entreprises.

Les médias ont depuis longtemps constitué un relais important pour ce type d'information tant sur la presse écrite qu'audio-visuelle, au plan régional comme national, même si, bien sûr, c'est le côté anecdotique des choses qui est le plus souvent mis en avant.

Ainsi, après avoir largement rejeté ce concept par trop "écolo", certains donneurs d'ordre sont maintenant demandeurs dans la mesure où le thème de la bioindication constitue un excellent vecteur d'information et de sensibilisation du public. L'observation des lichens est à la portée de tous, en toutes saisons et "visualise la qualité de l'air".

Cette attitude traduit dans tous les cas une évolution importante des mentalités en intégrant de plus en plus la biologie dans un monde où jusque là, la technologie régnait en maître absolu.

UNE NÉCESSAIRE ÉTHIQUE DE LA PART DES SCIENTIFIQUES

La rigueur du vocabulaire

Cette médiatisation montante de la bioindication ne doit pas faire oublier qu'il s'agit d'abord d'une démarche scientifique qui exige la rigueur du vocabulaire. Selon l'objectif du médiateur, la tentation pourra être grande de parler de différents niveaux de "qualité de l'air" plutôt que de "pollution", ou inversement de "pluies acides" plutôt que "d'acidification progressive des milieux"…

La bioindication n'échappe pas à l'effet grossissant des médias : le poids des mots n'est-ce pas ? Sans doute, le scientifique doit-il profiter de cette écoute bienveillante des journalistes et des chargés de communication des entreprises et des collectivités publiques, mais il doit veiller aussi au respect du vocabulaire et s'en porter garant. Sans aller jusqu'à la normalisation, les scientifiques de cette branche, du reste peu nombreux, ne devraient-ils pas harmoniser leurs modes d'expression afin d'en garantir la rigueur sans pour autant réduire son intelligibilité ?

L'expression cartographique

De même, l'expression cartographique devrait faire l'objet d'améliorations dans le sens de l'harmonisation des présentations entre les auteurs. Selon que les cartes de qualité de l'air sont présentées en couleurs, ou en noir et blanc, la symbolique varie énormément. Un dégradé de verts ou une gamme allant du bleu clair au noir ne véhiculent pas le même message, bien que l'information soit identique. Pour les cartes au trait, l'utilisation de trames grisées, de hachures ou de points indicés ne suggère pas non plus la même réaction du lecteur.

Comme il existe un code des couleurs pour les cartes géologiques, ne faudrait-il pas là aussi rechercher une "codification" de la cartographie de la qualité de l'air ?

Bien sûr, tous les auteurs n'en sont pas encore à s'accorder sur les différentes approches biologiques ou physico-chimiques, ni même sur les fondements et limites de la bioindication. Mais une "charte graphique" permettrait de délivrer une information sur des bases standardisées auprès d'un public très sensible à ces questions, qui attend un message clair, intelligible, crédible et sans tromperie.

L'information scientifique

La préoccupation éthique est devenue omniprésente dans notre société. Si les politiques et les journalistes ont déjà beaucoup alimenté ces débats, les scientifiques n'en sont pas moins concernés, leur mission est de transmettre une information scientifique, c'est-à-dire qui recherche l'objectivité en dehors de toute pression.

La bioindication lichénique, après trente ans d'expérience française, ouvre aussi cette voie de recherche et de réflexion.

Source : MNHN

BIBLIOGRAPHIE

AREMALRT, Lille-Roubaix-Tourcoing, 1995.– *Cartographie de la qualité de l'air de la Communauté Urbaine de Lille à partir de l'observation des lichens :* 15 p. + annexe 10 p.

ASTA, J., 1980.– *Flore et végétation lichéniques des Alpes nord-occidentales, écologie, biogéographie, écophysiologie, biodétection de la pollution fluorée*. Thèse de Doctorat es Sciences, Université de Grenoble : 1er tome, 249 p., 2e tome rassemblant 13 publications.

ASTA, J. & GARREC, J.P., 1980.– Etude de l'accumulation du fluor dans les lichens d'une vallée alpine polluée. *Environ. Poll.*, 21 : 267-286.

AUREAU, F. & BEDENEAU, M., 1974.– Essai de cartographie de la pollution à l'aide des épiphytes. *Rev. Forest. France*, 26 : 353-360.

BEDENEAU, M., 1982.– *Influence de la pollution atmosphérique sur la morphologie, l'anatomie et la biochimie de quelques lichens poléorésistants*. Thèse de Doctorat es Sciences, Université d'Orléans : 120 p.

BELANDRIA, G., 1985.– Détection de la pollution acide par les lichens dans la région lyonnaise. Rapport DDASS Rhône - UJF Grenoble 1 : 73p.

BELANDRIA, G. & ASTA, J., 1986.– Les lichens bioindicateurs : la pollution acide dans la région lyonnaise. *Poll. Atm.*, 109 : 10-23.

BELANDRIA, G. & ASTA, J., 1987.– Les lichens bioaccumulateurs : régression de la pollution fluorée dans la vallée de la Romanche (Isère, France). *Bull. Ecol.*, 18 : 117-126.

BELANDRIA, G., ASTA, J. & GARREC, J.P., 1991.– Diminutions of fluorine contents in lichens due to a regression of pollution in an alpine valley (Maurienne, Savoie, France) from 1975 to 1985. *Rev. Ecol. Alpine*, I : 45-58.

DELZENNE-VAN HALUWYN, C., 1973.– *Contribution à l'étude de la distribution des lichens épiphytes dans le nord de la France. Application au problème de la pollution atmosphérique*. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lille II : 162 p.

DERUELLE, S., 1978.– Etude comparée de la sensibilité de trois méthodes d'estimation de la pollution atmosphérique en utilisant les lichens comme indicateurs biologiques dans la région de Mantes (Yvelines). *Rev. Bryol. Lichénol.*, 44 : 429-441.

DERUELLE, S., 1983.– *Etude écologique des lichens du Bassin Parisien. Impact de la pollution atmosphérique (engrais, SO_2, Pb) et relations avec les facteurs climatiques*. Thèse de Doctorat es Sciences, Université Pierre et Marie Curie, Paris : 360 p. + annexes 202 p.

DERUELLE, S., 1995 a.– Système routier : la sensibilité des lichens à la pollution. Séminaire COMETT, Bioindication - Qualité de l'air et Santé, Lille 11-13 avril 1996.

DERUELLE, S., 1995 b.– La fiabilité des lichens comme bioindicateurs de la pollution plombique. Actes du Colloque International "Marqueurs biologiques de pollution", 21-22 septembre 1995, Chinon, France : 271-280.

DERUELLE, S. & GUILLOUX, F., 1993.– Evolution de la végétation lichénique en région parisienne entre 1981 et 1991 en relation avec la qualité de l'air. *Bull. Ass. Franç. Lichénol.*, mémoires n° 2 : 23-42

DERUELLE, S., LALLEMANT, R. & ROUX, C., 1979.– La végétation lichénique de la basilique Notre-Dame de l'Épine (Marne). *Doc. Phytosoc.*, 4 : 217-234.

HAWKSWORTH, D.L. & ROSE, F., 1970.– Qualitative scale for estimating sulphur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichen. *Nature*, 227 (5 254) : 145-149.

LALLEMANT, R. & VAN HALUWYN, C., 1981.– Effets des hydrocarbures sur les peuplements lichéniques et phénomènes de recolonisation. Amoco Cadiz. Conséquences d'une pollution accidentelle par les hydrocarbures. CNEXO : 405-413.

LEBLANC, F. & De SLOOVER, J., 1970.– Relation between industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal. *Canad. J. Bot.*, 48 : 1485-1496.

LEGRAND, I., 1991.– *Végétation lichénique et caractéristiques physico-chimiques des écorces : relations avec la symptomatologie du dépérissement des forêts des Alpes du Nord*. Thèse de Doctorat es Sciences, Université de Grenoble : 225 p.

LEGRAND, I. & ASTA, J., 1995.– Epiphytic flora and bark characteristics (pH, conductivity) in relation to forest decline in the Northern Alps. In : Forest decline and air pollution effects in the french mountains. Ed. Landmann et Bonneau, 1995, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 394-403.

LEROND, M., 1975.– Les lichens épiphytes du Parc Naturel Régional de Bretonne. *Rev. Soc. Savantes Haute Normandie*, 7 : 5-32.

LEROND, M., 1981.– *Les lichens épiphytes en Normandie orientale. Distribution, sociologie et apllication à la cartographie de la pollution atmosphérique.* Thèse Doctorat Rouen, 165p.

LEROND, M., 1990.– La qualité de l'air en Haute-Normandie. Rouen : CDM, Observatoire Régional de l'Environnement, Etude N° 82, 1990 : 31p.

LEROND, M., 1994.– Suivi de la qualité de l'air en Haute-Normandie, 1994. Rouen : Air Normand, 1994, 30p.

LETROUIT-GALINOU, M.A., SEAWARD, M.R.D. & DERUELLE, S., 1992.– A propos du retour des lichens dans le Jardin du Luxembourg. *Bull. Soc. Bot. France*, 139, *Lett. Bot.*, (2) : 115-126.

NYLANDER, W., 1866.– Les lichens du Jardin du Luxembourg. *Bull. Soc. Bot. France*, 13 : 364-372.

RIEUX, R., 1977.– Végétation lichénique et pollution atmosphérique dans la zone de Fos-sur-Mer. Premières observations. *Bull. Mus. Hist. Nat. Marseille*, 37 : 93-107.

ROUX, C. & SIGOILLOT, J.C., 1987.– Pollution par les aérosols marins : mise en évidence de lichens indicateurs. *Cryptogamie, Bryol., Lichénol.*, 8 (1) : 69-78.

VAN HALUWYN, C. & LEROND, M., 1986.– *Les lichens et la qualité de l'air. Evolution méthodologique et limites*. Ministère de l'Environnement (S.R.E.T.I.E.) : 213 p.

VINCENT, J.P., 1968.– *Contribution à l'étude et à la cartographie de la pollution atmosphérique de la ville de Toulouse, à l'aide des épiphytes et des épilithes*. Thèse de 3e cycle, Université de Toulouse : 174 p.

VINCENT, J.P., 1990.– Influence d'une atmosphère urbaine sur les différentes fonctions d'une espèce lichénique. Étude "*in situ*" et en chambrettes expérimentales. *Sci. Total Environm.*, 95 : 167-180.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

The authors summarize work undertaken in France since 30 years. Between 1968 and 1980 detailed maps were produced in order to assess SO_2 levels in different areas of France: Toulouse (VINCENT, 1968) north of France (DELZENNE-VAN HALUWYN, 1973) Normandie (LEROND, 1975) Fos-sur-Mer (RIEUX, 1977) and parisian area (DERUELLE, 1978, 1983). The hawksworth and Rose qualitative scale (1970) and Index of Atmospheric Purity (LEBLANC & DE SLOOVER, 1970) were the methodologies used by french lichenologists. Lichen indication of atmospheric quality had to take into account the decrease of SO_2 levels and to meet the requirements of different

Source : MNHN

environmental factors. Hence a new methodology was designed for elaborating a qualitative scale whatever the area ("Eco-lichenological diagnosis", VAN HALUWYN & LEROND, 1986).

Levels of fluorine in corticolous and terricolous lichens from the Alpine valleys were produced for 1975 to 1985 (ASTA, 1980; ASTA & GARREC, 1980; BELANDRIA & ASTA, 1987, BELANDRIA *et al.*, 1991).

Spatial and temporal data about lead accumulation in lichens were carried out in relation to vehicular traffic of A6 highway in Fontainebleau forest (DERUELLE, 1983; 1995 a et b).

Details of the recolonization of trees by epiphytic lichens in the north of France, Normandie and Parisian area are discussed in full, in the light of the changes that have taken place in the urban atmosphere.

French lichenologists have to meet the requirements of local and regional authorities for :

- air quality mapping (Lille, Paris and Rouen areas);
- environmental impact assessment (environmental impact of vehicular traffic produced by highways);
- planning inquiry (for example, on behalf of an electrical equipment industry);
- epidemiological survey (atmospheric pollution and health hazard for children in the Rouen area).

Recognizing these varied potentialities, decision-makers demand that bioindication be used as a means of raising public awareness.

The increasing mediatization must not disguise that bioindication is first of all a scientific process which requires rigour in vocabulary and cartography to guarantee an objective information.

Source : MNHN

Source : MNHN

Écologie, t. 27 (4) 1996 : 285-290

LA FIABILITE DES LICHENS COMME BIOINDICATEURS DE LA POLLUTION PLOMBIQUE*

Serge DÉRUELLE

Université Pierre et Marie Curie, Institut d'Écologie
Équipe de Lichénologie, BP 237, F-75252 Paris Cedex 05, France.

SUMMARY
(original scientific paper)

THE RELIABILITY OF LICHENS AS BIOMONITORS OF LEAD POLLUTION.
In the Fontainebleau forest in 1980, lead pollution due to car exhausts from the A_6 motorway was assessed using lichens as biomonitors. In 1992, samples of the same species, collected in the same area, contained 3,2 to 3,5 times less lead than those analysed twelve years before. The drop in lead accumulation in lichens -a reliable sign of lead depollution -is attributed to the growing use of unleaded petrol. There was 3,2 times less lead fallout in 1992 than in 1980: lichens are dependable indicators for monitoring lead depollution.

KEY WORDS : Lichen - Bioindicator - Air pollution - Lead - Depollution.

RÉSUMÉ
(travail original)

En 1980, l'impact de l'autoroute A_6 a été étudié en forêt de Fontainebleau, en utilisant les lichens comme bioindicateurs de la pollution plombique. La teneur en plomb des échantillons récoltés sur les mêmes sites en 1992, soit douze ans après les premières mesures, est selon les stations, de 3,2 à 3,5 fois plus faible que celle des lichens analysés en 1980. Cette baisse du taux de plomb accumulé par les thalles traduit une diminution des retombées plombiques qui sont 3,2 fois moins importantes en 1992 qu'en 1980. Les lichens témoignent très fidèlement de la dépollution plombique qui est attribuée à l'utilisation de l'essence sans plomb.

MOTS CLÉS : Lichen - Bioindicateur - Pollution atmosphérique - Plomb - Dépollution.

INTRODUCTION

Depuis maintenant vingt-cinq ans, les recherches appliquées à la pollution atmosphérique, en utilisant les lichens comme bioindicateurs, se sont multipliées. Les premières estimations de la pollution atmosphérique ont d'abord concerné la pollution acide (GILBERT, 1970; HAWKSWORTH & ROSE, 1970). Puis sont apparus les premiers travaux relatifs à l'accumulation des radioéléments et des métaux lourds par les lichens (JAMES, 1973, pour revue).

Après avoir établi l'inventaire des différentes recherches traitant de l'accumulation du plomb par les lichens, en fonction des différentes sources de pollution (complexe minier, usine, pollution automobile), DÉRUELLE (1983) a étudié l'accumulation du plomb par quinze espèces de lichens prélevés à proximité de l'autoroute A_6, en forêt de Fontainebleau (Seine-et-Marne, France). Les qualités des lichens comme indicateurs biologiques de la pollution plombique ont ensuite été discutées (DÉRUELLE, 1984). En absence de standardisation de la méthodologie, la validité des résultats est soumise au respect de quelques précautions concernant les conditions de prélèvement des thalles et de dosage du plomb.

L'introduction sur le marché de l'essence sans plomb a provoqué une réduction de la pollution plombique d'origine automobile. Le problème est de savoir si les lichens, déjà susceptibles de détecter une dépollution fluorée (BELANDRIA & ASTA, 1987) ou une dépollution acide (DÉRUELLE & GUILLOUX, 1993; SEAWARD, 1993), peuvent témoigner de la diminution de la pollution plombique. Le phénomène d'exsorption, déjà mis en évidence à la faveur de la retransplantation d'échantillons contaminés dans leur site d'origine non pollué, semble indiquer que les lichens

* Manuscrit reçu le 15 juillet 1996; version révisée acceptée pour publication le 25 octobre 1996.
Communication présentée au Colloque international "Marqueurs biologiques de pollution" (21-22 septembre 1995 à Chinon).

Source : MNHN

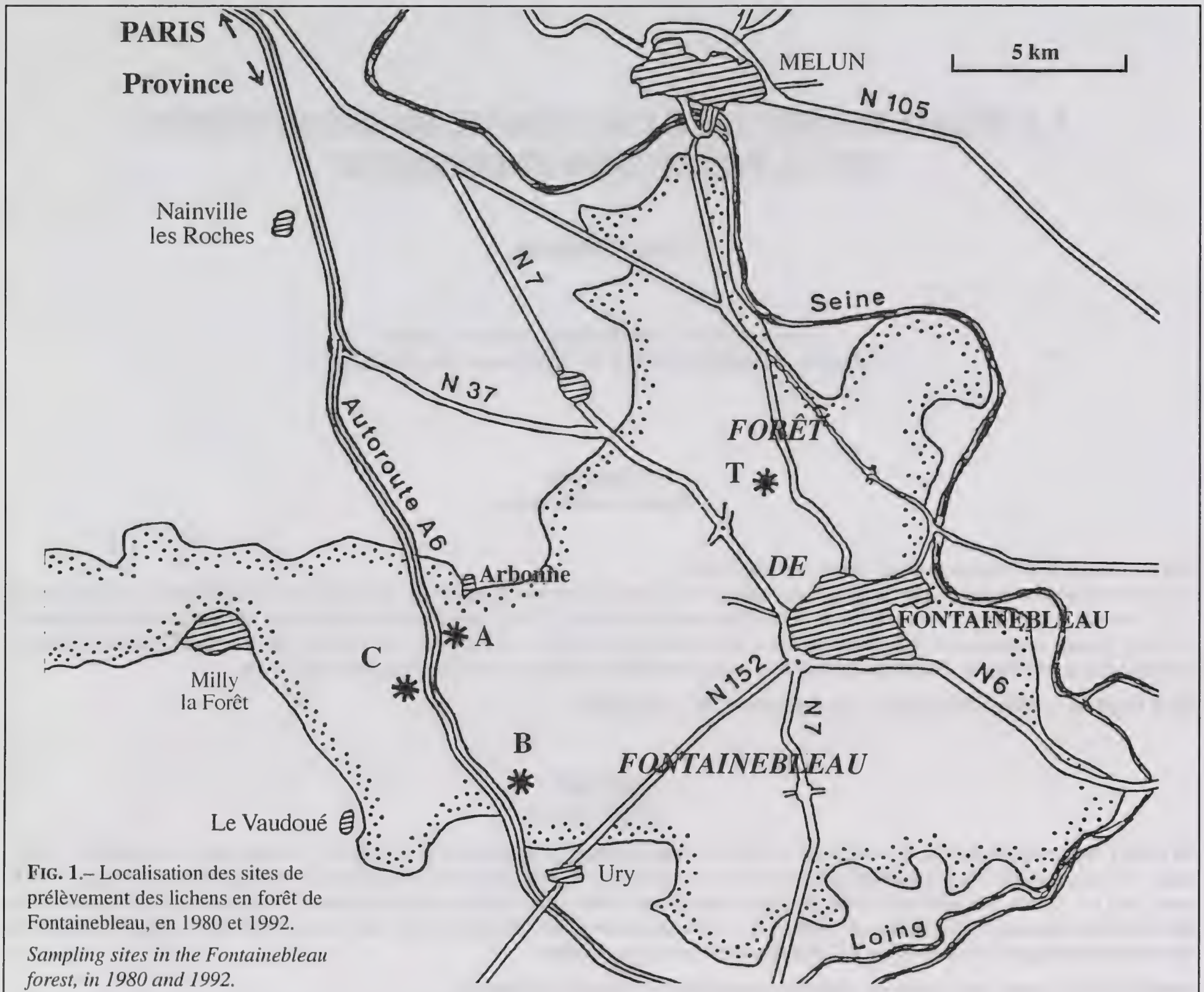


FIG. 1.– Localisation des sites de prélèvement des lichens en forêt de Fontainebleau, en 1980 et 1992.

Sampling sites in the Fontainebleau forest, in 1980 and 1992.

réagissent rapidement à une dépollution de l'air (DÉRUELLE, 1983 ; DÉRUELLE, 1992). Nous avons procédé au dosage du plomb sur des échantillons récoltés en 1992 près de l'autoroute A_6 en forêt de Fontainebleau, sur les mêmes sites qu'en 1980, soit douze ans après les premiers dosages. Nous présenterons ici ces résultats avant de confirmer les qualités des lichens comme bioindicateurs de la pollution plombique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

RÉCOLTE DES LICHENS

Les lichens étudiés en 1980 et en 1992 ont été prélevés rigoureusement sur les mêmes sites (FIG. 1), à 10 m de l'autoroute (stations A, B, C) et au lieu-dit le Rocher Saint-Germain (station T), site témoin non soumis à la pollution automobile directe.

La nomenclature utilisée est celle proposée par CLAUZADE & ROUX (1985). Les espèces ci-après ont été récoltées et analysées :

- **espèces terricoles :**
  Cladonia portentosa (Duf.) Coem.
  Cladonia chlorophaea (Flörke ex Sommerf.) Spreng. em. Ahti
- **espèces saxicoles :**
  Lasallia pustulata (L.) Mérat
  Umbilicaria grisea Hoffm.
- **espèces à la fois saxicoles et corticoles :**
  Hypogymnia physodes (L.) Nyl.
  Parmelia caperata (L.) Ach.
- **espèces corticoles :**
  Evernia prunastri (L.) Ach.
  Lecanora conizaeoides Nyl.
  Usnea hirta (L.) Web. ex Wigg.

Source : MNHN

MINÉRALISATION

Les lichens sont desséchés à l'étuve à 105 °C pendant 72 heures. Ils sont ensuite pesés et traités, sans lavage préalable, par le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) jusqu'à minéralisation complète (étuve à 60 °C pendant 72 heures). Le peroxyde d'hydrogène utilisé est du peroxyde d'hydrogène RP Normapur à 30 % pour analyses (stabilisé avec 0,0005 % de stannate de sodium) de chez Prolabo et à 110 volumes. La masse de chaque échantillon avant minéralisation est comprise entre 0,2 et 0,4 g de matière sèche.

DOSAGE DU PLOMB

Les dosages récents du plomb ont été effectués en utilisant la technique de l'I.C.P. (Plasma à Couplage Inductif). Les résidus sont laissés en contact dans 10 ml de HCl à 10 % (qualité pour analyses de traces) pendant 12 heures après bouchonnage. Une quantité de 5 ml est prélevée et centrifugée pendant 15 minutes à 3 000 tours/min. Le dosage est ensuite réalisé avec un spectroanalyseur (I.C.P.). Cette technique moderne (plus sensible en ce qui concerne le plomb) a tendance à supplanter la spectrophotométrie d'absorption atomique classique qui avait été utilisée dans nos travaux précédents (DÉRUELLE, 1983). Les dosages sur des échantillons témoins, prélevés en dehors de toute pollution directe, montrent des résultats comparables à ceux obtenus par la spectrophotométrie d'absorption atomique.

La précision des dosages dépend de la précision du spectroanalyseur et surtout de la précision des manipulations (pesée des lichens, volume de HCl).

Les résultats sont exprimés en microgrammes de plomb par gramme de matière sèche (µg/g), et l'incertitude est toujours inférieure à 10 %.

RÉSULTATS

Les résultats sont présentés sous forme d'histogrammes. Les noirs concernent les échantillons récoltés à 10 m de l'autoroute A_6 ; les gris correspondent aux thalles témoins (FIG. 2). Nous constatons que toutes les espèces étudiées contiennent moins de plomb en 1992 que douze années auparavant, quelle que soit la station étudiée. La moyenne des mesures réalisées sur les différentes espèces témoigne pour chaque station d'une baisse de la teneur en plomb du même ordre de grandeur : 3,2 fois moins à la station B et 3,5 fois moins aux stations A et C.

Les résultats obtenus à la station T confirment la diminution de l'accumulation du plomb.

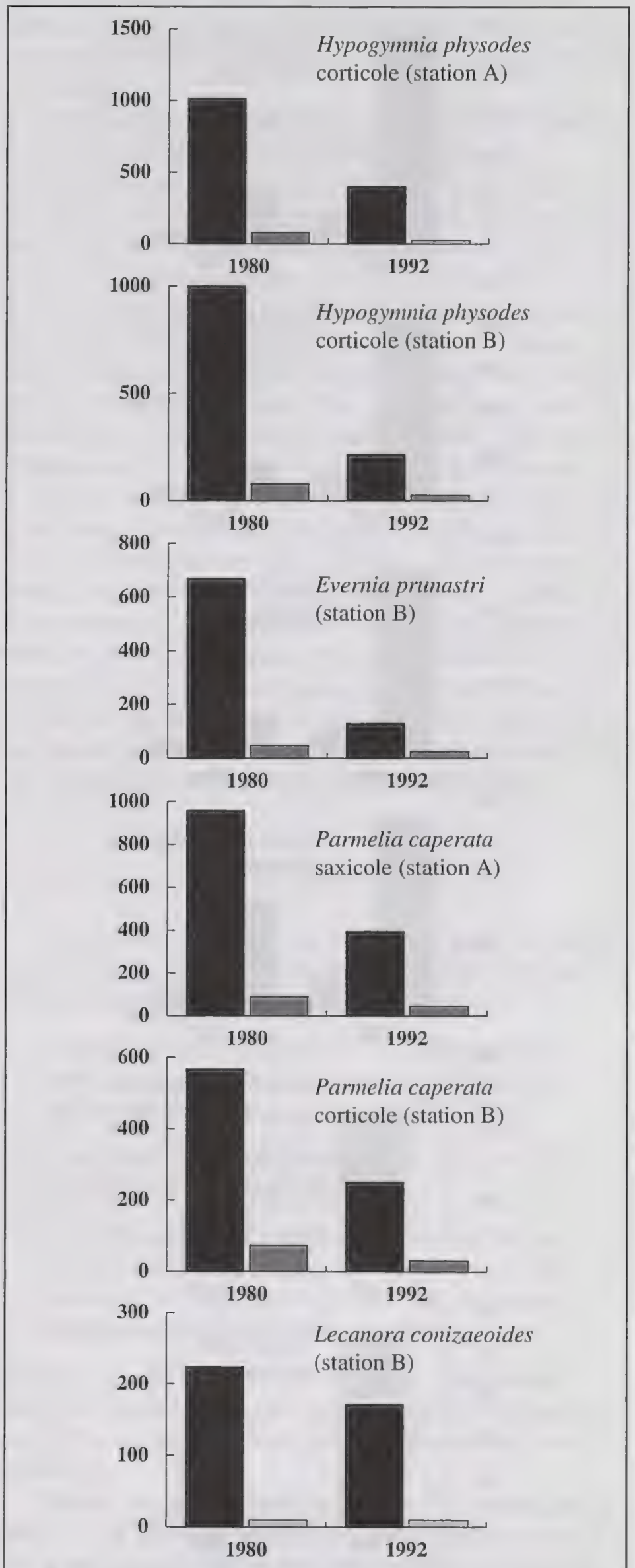


FIG. 2.– Teneur en plomb (en µg/g) des échantillons récoltés à 10 m de l'autoroute (en noir) et sur le site témoin (en grisé).

Lead content (µg/g) in lichens collected 10 m from the A_6 motorway (black) and in an unpolluted area (grey).

Source : MNHN

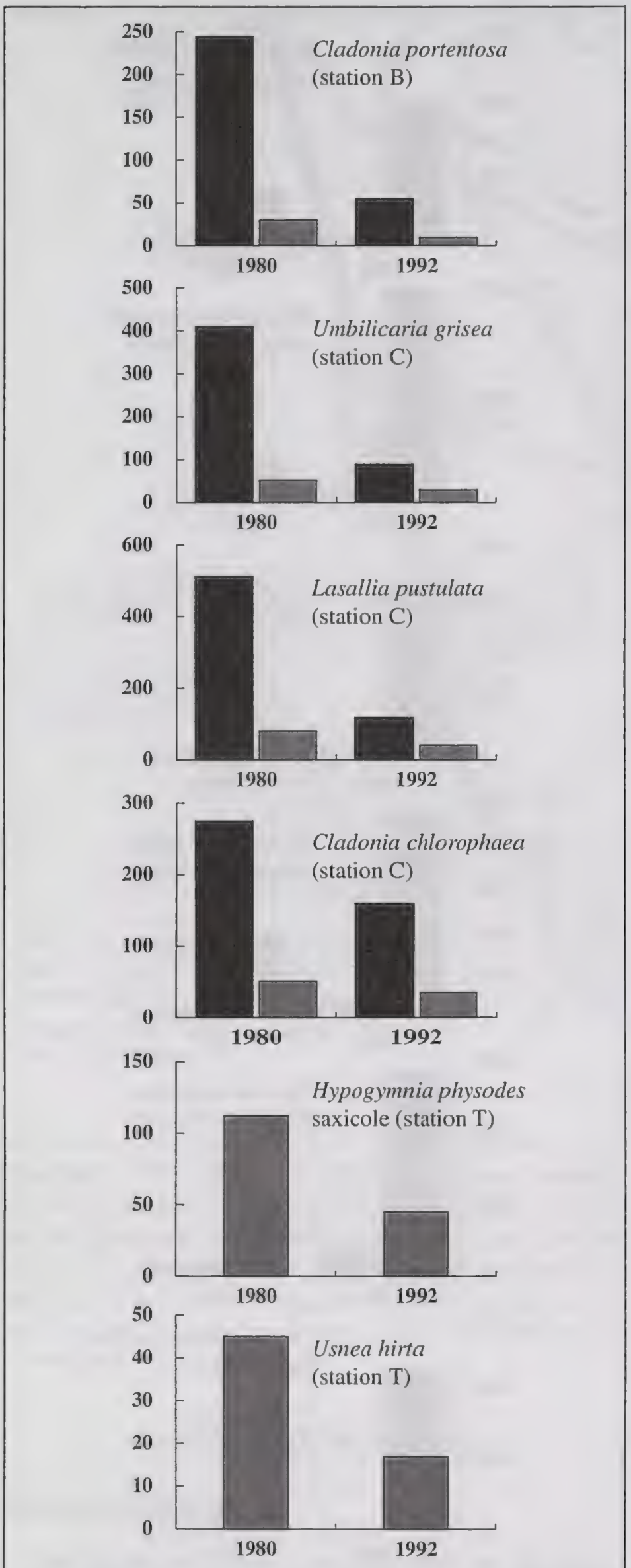


FIG. 2.– Teneur en plomb (en µg/g) des échantillons récoltés à 10 m de l'autoroute (en noir) et sur le site témoin (en grisé).

Lead content (µg/g) in lichens collected 10 m from the A_6 motorway (black) and in an unpolluted area (grey).

DISCUSSION

Diminution importante de la teneur en plomb des lichens récoltés à proximité de l'autoroute entre 1980 et 1992.

Les résultats précédents traduisent indiscutablement une baisse des retombées atmosphériques plombiques en bordure de l'autoroute entre 1980 et 1992. Cette diminution de la pollution plombique peut être attribuée à l'utilisation de l'essence sans plomb.

Rappelons que depuis le 1er janvier 1981 la quantité de plomb ajouté à l'essence était, d'après la législation française, limitée à 0,40 g/l, au lieu des 0,55 g/l depuis le 1er avril 1976. Puis en 1987 plusieurs raffineurs commencent à commercialiser de l'essence à teneur réduite en plomb (0,25 g/l et 0,10 g/l). Enfin, en juin 1989, en application d'une directive de la CEE, est proposée sur le marché l'essence "sans plomb". En 1992, année de la deuxième série de dosages à Fontainebleau, l'essence sans plomb représente 31,2 % de la vente des carburants des moteurs à allumage commandé (moteurs non diesel).

En 1981, on peut estimer la baisse des émissions plombiques de l'ordre de 27 % (0,40 g/l au lieu de 0,55 g/l). Puis à partir de juin 1989, il y a une baisse continue de la pollution liée à l'augmentation de l'utilisation de l'essence sans plomb (FIG. 3). Ainsi fin 1992, les retombées plombiques dues à la circulation automobile représentent 31 % des retombées estimées en 1980, soit une quantité 3,2 fois moins importante.

Comme l'intensité du trafic des véhicules à essence n'a pas diminué pendant cette période (données de la Société des Autoroutes Paris-Rhin-Rhône, au péage de Fleury-en-Bière à 7 km de la station B), on peut donc établir une relation entre la baisse de l'accumulation du plomb par les lichens et la diminution de la pollution atmosphérique. Les lichens répercutent très fidèlement la baisse de la pollution plombique d'origine automobile.

La diminution de la teneur en plomb des lichens a été mise en évidence pour la première fois en 1980 (DÉRUELLE, 1983), dans des cas bien précis de dépollution plombique. Ce phénomène alors appelé exsorption a été observé lors de périodes de vents contraires (inversion du sens de la diffusion des gaz d'échappement) et au cours d'expériences de retransplantation (réinstallation d'échantillons contaminés dans leur biotope d'origine). Dans les deux cas, la réponse est immédiate et concerne toutes les espèces étudiées. Plus récemment, l'exsorption a été détectée le mois suivant la fermeture d'une route nationale (SEMADI & DÉRUELLE, 1993). Cette exsorption du plomb peut être rapprochée des lessivages acides réalisés sur différents thalles au laboratoire (DÉRUELLE, 1983). Si le mécanisme d'exsorption n'a pas été approfondi, il a cependant été montré que le plomb localisé dans les espaces intercellulaires de la médulle a tendance à être éli-

Source : MNHN

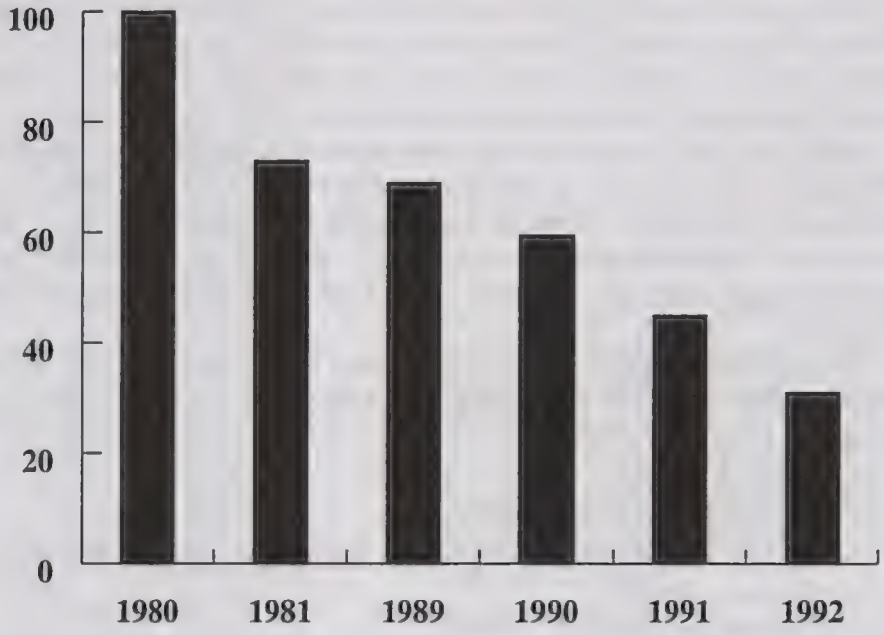


FIG. 3.– Baisse des retombées plombiques entre 1980 et 1992.
Decline of lead fallouts between 1980 and 1992.

miné plus rapidement que le plomb intracellulaire. Le calcul de la période biologique définie par WALTHER *et al* (1990) indique une valeur moyenne de 1,7 ans pour l'ensemble des espèces récoltées à proximité de l'autoroute. Ce résultat est comparable aux valeurs trouvées par ces auteurs (1,6 ans pour l'aluminium et 3,5 ans pour le zinc) sur deux espèces (*Parmotrema praesorediosum* (Nyl.) Hale et *Ramalina stenospora* Mull. Arg.) communes en Louisiane (États-Unis).

A Fontainebleau, nous avons pu établir en plus une relation quantitative entre l'exsorption du plomb et la diminution de la pollution atmosphérique. L'utilisation d'un nombre important d'espèces nous a permis d'atténuer les variations spécifiques et d'améliorer la précision des résultats. De plus, nous avons essayé d'éliminer les variations dues à l'âge des lichens et à la mobilité du plomb à l'intérieur même du thalle, en effectuant les dosages dans des thalles entiers ou dans des fragments en forme de secteur pour le *Parmelia caperata*. En effet, le taux de plomb est plus élevé au centre du thalle et plus faible dans les parties jeunes (BARGAGLI *et al.*, 1987). Il nous est donc difficile de suivre SCHWARTZMAN *et al.* (1991) qui déterminent rétrospectivement les retombées atmosphériques en dosant le plomb dans des zones (auréoles) d'âge différent provenant d'un même échantillon, car l'absorption du plomb s'effectue par toute la surface du thalle et non seulement par les parties en croissance. A cela s'ajoute la mobilité du plomb, surtout du plomb intercellulaire, localisé dans les espaces du cortex et de la médulle, phénomène décrit à plusieurs reprises (GARTY *et al.*, 1979; TYLER, 1989). La méthode utilisée ici permet d'éviter ces inconvénients.

Quelques autres précautions méthodologiques, comme le prélèvement des échantillons dans des conditions écologiques comparables, dans un laps de temps très court (ici le même jour pour chaque série de dosages) et leur traitement rapide, ont permis d'obtenir des résultats indiscutables. Ces précautions, déjà signalées (DÉRUELLE, 1984), sont indispensables pour suivre l'évolution de la pollution plombique.

Diminution importante de la pollution de fond en forêt de Fontainebleau entre 1980 et 1992.

En 1992, douze séries de mesures ont été effectuées sur des lichens prélevés à la station témoin (station T) en dehors de toute pollution automobile directe. Selon les espèces, l'accumulation du plomb est de 1,5 fois (*Cladonia chlorophaea*) à 3,2 fois (*Hypogymnia physodes*) plus faible qu'en 1980. Pour l'ensemble des 12 espèces, la teneur en plomb est 2,3 fois moins élevée qu'il y a douze ans. Ce résultat traduit une baisse certaine de la pollution plombique de fond en forêt de Fontainebleau. Étant donné l'éloignement de la station T par rapport à l'autoroute A_6 et aux autres voies de circulation, on peut considérer que la pollution, qualifiée de "pollution de fond", est une pollution diffuse résultant de la densité de l'ensemble du réseau des voies ouvertes à la circulation automobile, au niveau régional. Cette pollution de fond est globalement en baisse de 2,3 fois depuis 1980, baisse inférieure à celle détectée à proximité immédiate de l'autoroute. Cela peut s'expliquer par une teneur initiale plus faible en plomb et par l'amortissement de la dépollution, amortissement lié à l'éloignement de la source principale de pollution.

CONCLUSION

Les lichens réunissent les conditions que l'on attend des indicateurs biologiques de pollution. Outre les qualités suivantes, déjà signalées précédemment :

– une sensibilité remarquable à la pollution plombique, liée à un pouvoir exceptionnel d'accumuler rapidement le plomb d'origine atmosphérique ;

– une facilité d'utilisation due à leur activité continue et à leur longévité ;

– une grande densité de leur répartition géographique, une abondance des espèces et une richesse des échantillons qui sont des paramètres indispensables à la précision des résultats ;

les lichens possèdent la faculté de réagir rapidement à une baisse de la pollution grâce au mécanisme d'exsorption qui reflète quantitativement la diminution de la pollution plombique.

Toutes ces qualités font des lichens des bioindicateurs fiables de la pollution plombique, bioindicateurs permettant maintenant un suivi extrêmement fidèle de la dépollution. L'étude réalisée en forêt de Fontainebleau est la première à mettre en évidence une dépollution plombique réelle, liée à l'utilisation de l'essence sans plomb, en utilisant des végétaux comme bioindicateurs.

Source : MNHN

BIBLIOGRAPHIE

BARGAGLI, R., IOSCO, F.P. & D'AMATO, M.L., 1987.– Zonation of trace metal accumulation in three species of epiphytic lichens belonging to the genus *Parmelia*. *Cryptogamie, Bryol. Lichénol.*, 8 : 331-337.

BELANDRIA, G. & ASTA, J., 1987.– Les lichens bioaccumulateurs : régression de la pollution fluorée dans la vallée de la Romanche (Isère, France). *Bull. Ecol.*, 18 : 117-126.

CLAUZADE, G. & ROUX, C., 1985.– Likenoj de Okcidenta Europo; Ilustrita determinlibro. *Bull. Soc. bot. Centre-Ouest, Nouvelle Série. Numéro Spécial*, VII : 893p.

DERUELLE, S., 1983.– *Écologie des lichens du Bassin Parisien. Impact de la pollution atmosphérique (engrais, SO_2, Pb) et relations avec les facteurs climatiques.* Thèse de Doctotat d'État, Université Pierre et Marie Curie, Paris : 356p. et annexe : 202p.

DERUELLE, S., 1984.– L'utilisation des lichens pour la détection et l'estimation de la pollution par le plomb. *Bull. Ecol.*, 15 : 1-6.

DERUELLE, S., 1992.– Accumulation du plomb par les lichens. *Bull. Soc. bot. Fr.*, 139, *Actual. bot.* (I) : 99-109.

DERUELLE, S. & GUILLOUX F., 1993.– Evolution de la végétation lichénique en Région parisienne entre 1981 et 1991, en relation avec la qualité de l'air. *Bull. Inform. Ass. Fr. Lichén. Mémoires*, II : 23-42.

GARTY, J., GALUN, M. & KESSEL, M., 1979.– Localization of heavy-metals and other elements acccumulated in the lichens thallus. *New Phytol.*, 82 : 159-168.

GILBERT, O.L., 1970.– Further studies on the effect of sulphur dioxide on lichens and bryophytes. *New Phytol.*, 69 : 605-627.

HAWKSWORTH, D.L. & ROSE, F., 1970.– Qualitative scale for estimating sulphur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichens; *Nature*, 227 : 145-148.

JAMES, P.W., 1973.– The Effect of Air Pollutants other than Hydrogen Fluoride and Sulphur Dioxide on Lichens. In *Air pollution and Lichens*, Athlone press, Londres : 143-175.

SCHWARTZMAN, D.W., STIEFF, L., KASIM, M., KOMBE, E., AUNG, S., ATEKWANA, E., JOHNSON, Jr J. & SCHWARTZMAN, K., 1991.– An ion-exchange model of lead-210 and lead uptake in a foliose lichen; application to quantitative monitoring of airborne lead fallout. *The Science of the Total Environment*, 100 : 319-336.

SEAWARD, M.R.D., 1993.– Lichens as biomonitors of quantitative and qualitative changes in air pollution. *Bull. Inform. Ass. Fr. Lichén. Mémoires*, II : 13-21.

SEMADI, A. & DÉRUELLE, S., 1993.– Détection de la pollution plombique à l'aide de transplants lichéniques dans la région de Annaba (Algérie). *Pollution atmosphérique*, 140 : 86-102.

TYLER, G.,1989.– Uptake, retention and toxicity of heavy metals in lichens. *Water, Air and Soil Pollution*, 47 : 321-333.

WALTHER, D.A., RAMELOW, G.J., BECK, J.N., YOUNG, J.C., CALLAHAN, J.D. & MARCON, M.F., 1990-Temporal changes in metal levels of the lichens *Parmotrema praesorediosum* and *Ramalina stenospora*, southwest Louisiana. *Water, Air and Soil Pollution*, 53 : 189-200.

ENGLISH ABRIDGED VERSION

For 25 years now, research using lichens as bioindicators of air pollution has greatly expanded. Following the early work on acid pollution (HAWKSWORTH & ROSE, 1970), then on the accumulation of radioelements and heavy metals (JAMES, 1973), our study focused on lead accumulation by lichens. More particularly, we studied lead from automobile exhaust (DÉRUELLE, 1983). Investigation on 15 lichen species -collected *in situ* or transplanted- allowed a very accurate assessment of the impact of the A_6 motorway, through Fontainebleau forest, during the year 1980. In particular, we established a highly significant correlation between lead accumulation and proximity to the motorway.

Again in 1992, we measured the quantity of lead in samples collected in the vicinity of the same motorway. Lichens studied in 1980 and 1992 were collected on exactly the same sites (Fig. 1), 10 m from the motorway (sites A, B, C), as well as on the Rocher Saint-Germain (site T), reference site free from direct automobile pollution.

The following species (CLAUZADE and ROUX table, 1985) were collected and analysed according to methodological precautions as defined in DÉRUELLE (1984):

- terricolous species:
  Cladonia portentosa (Duf.) Coem.
  Cladonia chlorophaea (Flörke ex Sommerf.) Spreng. em. Ahti
- saxicolous species:
  Lasallia pustulata (L.) Mérat
  Umbilicaria grisea Hoffm.
- saxicolous / corticolous species:
  Hypogymnia physodes (L.) Nyl.
  Parmelia caperata (L.) Ach.
- corticolous species:
  Evernia prunastri (L.) Ach.
  Lecanora conizaeoides Nyl.
  Usnea hirta (L.) Web. ex Wigg.

The more recent measurements were carried out using the I.C.P. (inductively coupled plasma) method. In 1980 the measurements used standard atomic absorption spectrophotometry. Results (FIG. 2) are in micrograms of lead per gram of dry matter (µg/g).

We can notice that all studied species contain less lead in 1992 than twelve years before. The average figure for all measured species displays -on each site- a similar decrease in lead content: 3,2 times less on site B, and 3,5 times less on sites A and C. Results on site T confirm the decrease in lead accumulation, through to a lesser degree (2,3 times less).

The above figures undeniably show a decrease in lead fallout along the motorway between 1980 and 1992. This decrease in lead pollution may be ascribed to the consumption of unleaded petrol. Indeed, in late 1992, lead fallout caused by road traffic was 31% of that estimated in 1980, that is to say 3,2 times less important (Fig. 3). Since road traffic has not decreased over the same period, one can thus establish a link between the drop in lead accumulation by lichens and the reduction in air pollution. Lichen is a highly accurate barometer of lead depollution linked with the motor industry.

The decrease in the quantity of lead in lichens was first revealed in 1980 (DÉRUELLE, 1983) in very precise cases of lead depollution (inverted diffusion of exhaust and experiments on retransplantation of contaminated samples into their original habitat). This phenomenon - then called exsorption- is immediate, and concerns all studied species. More recently, exsorption was detected in the course of the month following the closure of a major road (SEMADI and DÉRUELLE, 1983). In Fontainebleau, moreover, we were given the opportunity to establish a quantitative link between lead exsorption and a decrease in air pollution. Finally, the overall basic pollution has decreased 2,3 times -fold since 1980- which is less than the decrease detected in the vicinity of the motorway. The explanation may be found in the lower initial quantity of lead, as well as in the slackening of depollution with the distance from the main source of pollution.

To the acknowledged qualities of lichens as accurate biomonitors of lead pollution -**high sensitivity, high accuracy of results, usability**- can now be added an exceptional **reliability**. This property not only allows to assess more accurately the impact of lead pollution, but also allows to estimate the quantitative variations of air pollution over a length of time, and more particularly to detect instances of depollution.

This is the first study that reveals, through the use of plants as biomonitors, a real decrease of lead pollution, linked with the consumption of unleaded petrol.

Source : MNHN

TABLE DES MATIÈRES
— *CONTENTS* —
VOLUME 27, 1996

BARON, J., LESAVRE, L. & SCHWARTZBROD, L.– Attempts to use *Dreissena polymorpha* as a bioindicator of viral pollution of sewage treatment plant effluents ..... **257 (4)**
Tentative d'utilisation de Dreissena polymorpha comme bioindicateur de pollution virale des effluents de station d'épuration

BÉRARD, A. & PELTE, T.– Effets de l'atrazine sur l'évolution des peuplements phytoplanctoniques lacustres - Étude en enceintes expérimentales *in situ* ..... **195 (4)**
Effects of Atrazine on the evolution of lacustrine phytoplanktonic communities - In situ *study with experimental enclosures*

BRUNET, R.-C.– Évaluation de la dénitrification dans le lit mineur de l'Adour ..... **91 (2)**
Importance of the denitrification in the mean water channel of the Adour river in south west France

BORNARD, A., COZIC, P. & BRAU-NOGUÉ, C.– Diversité spécifique des végétations en alpage : influence des conditions écologiques et des pratiques ..... **103 (2)**
Species diversity of vegetations in alpine pastures: influence of ecological conditions and practices

CASTRO, L., CARMO, C., PERES, I. & PIHAN, J.-C.– Évaluation du mollusque bivalve, *Ruditapes decussatus* L. comme bioindicateur : accumulation et décontamination du zinc et du plomb ..... **263 (4)**
Clams, Ruditapes decussatus *L., as a pollution bioindicator: zinc and lead accumulation and depuration*

COSTA, F.O., CORREIA, A.D. & COSTA, M.H.– Sensibilité d'un amphipode marin vis-à-vis des facteurs de l'environnement et du cuivre dans les sédiments ..... **269 (4)**
Sensitivity of a marine amphipod to non-contaminant variables and to copper in the sediment

DANIEL, H. & HAURY, J.– Écologie des macrophytes aquatiques d'une rivière armoricaine (le Scorff, Bretagne sud, France), application à la bioindication ..... **245 (4)**
Ecology of aquatic macrophytes in an Armorican river (the River Scorff, Southern Brittany, France), application to bioindication

DÉRUELLE, S.– La fiabilité des lichens comme bioindicateurs de la pollution plombique ..... **285 (4)**
The reliability of lichens as biomonitors of lead pollution

DUTOIT, T. & ALARD, D.– Les pelouses calcicoles du nord-ouest de l'Europe (*Bromatelia erecti* Br. Bl. 1936) : Analyse bibliographique ..... **5 (1)**
*Chalk grasslands of north-western Europe (*Brometalia erecti *Br. Bl., 1936) : a review*

ESCARAVAGE, N., PORNON, A. & DOCHE, B.– Évolution des potentialités dynamiques des landes à *Rhododendron ferrugineum* L. avec les conditions de milieu (étage subalpin des Alpes du Nord, France) . **35 (1)**
Evolution of dynamics potentialities of Rhododendron ferrugineum *L. heathlands with environmental conditions (subalpine level, Northern Alps, France)*

GHANNOUCHI, R. & SAISON, J.-Y.– Composition ionique des eaux de pluie collectées sur le massif vosgien de 1989 à 1991 ..... **79 (2)**
Chemical composition of atmospheric precipitation in the Vosges from 1989 to 1991

HAURY, J., PELTRE, M.C., MULLER, S., TRÉMOLIÈRES, M., BARBE, J., DUTARTRE, A. & GUERLESQUIN, M.– Des indices macrophytiques pour estimer la qualité des cours d'eau français : premières propositions ..... **233 (4)**
Macrophyte indices for the assessment of stream water quality in France: preliminary proposals

LEROND, M., VAN HALUWYN, C. & CUNY, D.– Lichens et bioindication, réalisations concrètes et exigences éthiques **277 (4)**
Lichens and bioindication: practical applications

MOULTON, M.P., SANDERSON, J.G. & SIMBERLOFF, D.– Étude du rôle de la compétition sur la survie de passereaux introduits aux îles Mascareignes (Océan Indien) ..... **143 (3)**
Passeriform Introductions to the Mascarenes (Indian ocean) : an assessment of the role of competition

ORTH, D. & GIRARD, C.M.– Espèces dominantes et biodiversité : relation avec les conditions édaphiques et les pratiques agricoles pour des prairies des marais du Cotentin ..... **171 (3)**
Dominant species and biodiversity : relation with edaphic conditions and agricultural management in marshy grasslands of Cotentin (France)

PALKA, L. & BLANDIN, P.– Éditorial ..... **3 (1)**

REILLE, M., ANDRIEU, V. & BEAULIEU (DE), J.-L.– Les grands traits de l'histoire de la végétation des montagnes méditerranéennes occidentales ..... **153 (3)**
The main features of the vegetation history in western mediterranean mountains

ROBACH, F., MERLIN, S. , ROLLAND, T. & TRÉMOLIÈRES, M.– Assimilation et stockage du Phosphore par des macrophytes aquatiques bioindicateurs du niveau trophique de l'eau ..... **203 (4)**
Ecophysiological approach of water quality bioindication using aquatic plant materials: the role of phosphorus

Source : MNHN

TABLE DES MATIÈRES (suite)
— *CONTENTS (follow)* —
VOLUME 27, 1996

ROLLAND, T., ROBACH, F., TRÉMOLIÈRES, M. & DESTER, S.– L'activité nitrate réductase chez les plantes aquatiques : un outil biologique du suivi de la contamination ammoniacale ..... **215 (4)**
Nitrate reductase activity in aquatic plants as an indicator of ammonia nitrogen contamination

SCHITZLER, A., ENGLIN, I., ROBACH, F. & TRÉMOLIERES M.– Réponse des communautés végétales aquatiques aux concentrations en phosphore et en azote dans le réseau hydrographique d'un ancien marais de la plaine alluviale d'Alsace (Est de la France) ..... **51 (1)**
Response of aquatic macrophytes communities to levels of Pand Nutrients in an old swamp of the upper Rhine plain (eastern France)

SEGHIERI, J.– Rythmes saisonniers d'une savane soudano-sahélienne en relation avec l'hydrodynamique du sol ... **67 (2)**
Seasonal rhythms in a sudano-sahelian savanna in relation to soil water dynamics

THOEN, D., ROUSSEL, L. & NICOLAS, J.– Étude des groupements de macrophytes vasculaires aquatiques de la Semois en rapport avec la qualité globale des eaux et du milieu ..... **223 (4)**
Study of the aquatic vascular macrophyte vegetation of the Semois river the global quality of water and aquatic environment

VERNON, P., VANNIER, G. & LUCE, J.-M.– Découverte de larves tolérantes et intolérantes à la congélation dans une même guilde de cétoines (Coléoptères) en forêt de Fontainebleau ..... **131 (3)**
Detection of freeze-tolerance and freeze-intolerance in larvae from the same guild of Cetoniidae (Coleoptera) in Fontainebleau forest (France)

Source : MNHN

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Écologie, the journal of the Société Française d'Écologie, publishes works in all fields of ecology, basic or applied. Manuscripts should be written preferentially in French or English. The journal publishes also thesis abstracts, forum and books reviews.

Printed texts should not exceed 10 pages including figures, tables, bibliography and appendix. However, synthesis papers couldn't up to 15 printed pages. Exceptionally, longer manuscripts could be considered. Texts for thesis abstracts or forum should not exceed 2 printed pages, possibly with some figures and no references.

Manuscripts are submitted in triplicate (original manuscript plus 2 copies of text, figures, tables and appendix) in final form. They should be typed, double spaced, on one side of the A4 size paper (21 x 29.7 cm) with margin of 5 cm. Manuscripts should be divided into the following sequence. French could be written or rewritten by the redaction if necessary :

- the title written in French and English
- surname of author (s), full name and full adress or different addresses on a separate sheet
- an abstract of up to 800 signs written in French and English (it should be mentioned if it is an original or perfecting work)
- an abridged version up to 5,000 signs written in French and English
- the key words written in French and English
- a running title of up to 40 signs written in French and English the opposite language
- main text with evident subtitles and paragraphs, and mentioning into the margin, written in pencil, passages that can be printed in small types. No other typographic indication must be mentioned, excepted Latin name of organisms simple underlined, and the author's surnames double underlined. Author's surnames are typed in small letters.

Tables should be numbered in Roman numerals and should be ready for use as a plate by the printer, if necessary. Legends are written in French and English and are typed sequentially on a separate sheet.

Illustrations, drawings and photographs, are numbered in Arabic numerals and are made according to the journal format, anticipating reduction possibilities, especially concerning letters, numerals and symbols. Only original drawings are considered. Illustrations should not exceed format 40 x 30 cm and should be sent in flat form. Authors indicate in pencil the reduction percentage and number wanted for each illustration. Legends are written in French and English and are typed sequentially on a separate sheet.

The bibliography is presented as follows :

CHITTY, D., PIMENTEL, D. & KREBS, C.J., 1968.– Food supply of overwintering voles. *J. Anim. Ecol.*, 37 : 113-120.

ARTHUR, W., 1987.– *The niche in competition and evolution.* Wiley and Sons, Chichester : 175 p.

GARAY, I. & NATAF, L., 1982.– Microarthropods as indicators of human trampling in suburban forests. *In :* BORNKAMM, R., LEE, J.A. & SEAWARD, M.R.D. (eds), *Urban Ecology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford : 201-207.

CLEMENT, B., 1987.– *Structure et dynamique des communautés et des populations végétales des landes bretonnes.* Thèse de Doctorat ès Sciences, Université de Rennes 1 : 320 p.

Manuscripts stored on computer (MS DOS or MACINTOSH) should be saved under ASCII form or with any standard word processing software. Mac Draw (Pict) or Illustrator (EPS) can be used for drawings. Authors should not submit texts saved under paginator and should not use 5"1/4 HD disks.

Manuscripts are sumitted with out the authors name and adress (blind refereeing) to two referees at least. Reviewing is about one month. Authors must answer to the comments of referees on a separate sheet. When the paper may be published after major revision, the corrected version is submitted to the referee again. The referree will received the paper as it is published.

Authors will receive only one set of proofs for checking. Proofs must be returned to the publisher within 8 days, including reprint's order (no reprints are sent free of charge to authors). If papers are not returned within the delay of 8 days, the publisher will check proofs and then no reprint could be ordered. Only typographic details should be corrected. Other corrections will not be considered. Any modification or addition will be charged to authors. Authors are required to bear the cost of photograph plates and to order them with reprint's order.

Thesis abstracts are typed mentioning in the following sequence : Author's surname and name, the title of thesis, the number of pages, kind of thesis, University, the day of thesis's defence, board members. Proofs of thesis abstracts are checked by the publisher. Texts for forum are directly published. However, the publisher keeps the right to recommend to authors some modifications that seem needed.

Source : MNHN

Analyse d'un article soumis pour publication
Review of a submitted paper

● Le titre est-il suffisamment concis ?
Is the title concise enough ? OUI ❐ NON ❐

● Le titre reflète-t-il bien le contenu ?
Does the title clearly reflect the content ? OUI ❐ NON ❐

● Le résumé est-il suffisamment explicite ? Donne-t-il les informations essentielles sur les méthodes, sur les résultats ?
Is the summary sufficiently informative ? Does it give the basic information on methods and results ? OUI ❐ NON ❐

● L'introduction situe-t-elle bien la problématique de l'article ?
Does the introduction clearly present the aim of the work ? OUI ❐ NON ❐

● L'exposé des méthodes est-il suffisamment détaillé ?
Are the methods presented with enough details ? OUI ❐ NON ❐

● Quel est le degré de nouveauté des résultats ?
What is the level of novelty of results ?
faible/*low* ❐
moyen/*medium* ❐
élevé/*high* ❐

● La discussion et les conclusions sont-elles convenablement argumentées ?
Are the discussion and conclusions correctly argued ? OUI ❐ NON ❐

● Les mots-clés sont-ils bien choisis ? OUI ❐ NON ❐
Are the key-words suitable ?

● Le texte est-il suffisamment concis ? OUI ❐ NON ❐
Is the text concise enough ?

● Dans le cas d'un article de synthèse, le texte fait-il bien ressortir les acquis et les perspectives dans le domaine présenté ?
In case of a review, does the paper adequately emphasize the knowledge and the expected developments in the presented field ? OUI ❐ NON ❐

● Les tableaux et figures sont-ils tous utiles ? OUI ❐ NON ❐
Are tables and illustrations all necessary ?

● Les figures sont-elles acceptables pour la reproduction ?
Are illustrations acceptable for a correct reproduction ? OUI ❐ NON ❐

● La bibliographie est-elle judicieusement sélectionnée ? OUI ❐ NON ❐
Is the bibliography judiciously selected ?

● La bibliographie est-elle à jour ? OUI ❐ NON ❐
Is the bibliography up-to-date ?

Conclusions

● Article non publiable ❐
The paper cannot be pubished

● Publiable après révision majeure ❐
The paper may be published after major revision

● Publiable après révision mineure ❐
The paper can be published after minor revision

● Publiable en l'état ❐
The paper can be published as it is

Source : MNHN

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

Écologie, revue scientifique de la Société Française d'Écologie, publie des travaux dans tous les domaines de l'écologie, aussi bien fondamentale qu'appliquée. Les articles sont rédigés de préférence en français ou en anglais. La revue publie aussi des résumés de thèses ainsi qu'une tribune libre et des analyses d'ouvrages.
La longueur d'un article, une fois imprimé, ne doit pas excéder 10 pages, figures, tableaux, bibliographie et annexes compris. Toutefois, dans le cas d'articles de synthèse, la longueur pourra atteindre 15 pages imprimées, tout compris. Exceptionnellement, des articles plus longs pourront être pris en considération. Les textes proposés pour la Tribune ne devront pas excéder l'équivalent de 2 pages imprimées, tout compris. Les résumés de thèses devront tenir en 2 pages imprimées, y compris d'éventuelles figures ; ils ne devront pas comporter de bibliographie.

Les manuscrits des articles seront fournis en 3 exemplaires (original + 2 copies du texte, des figures, tableaux et annexes) sous leur forme définitive. Ils devront être entièrement dactylographiés au recto de feuilles 21 x 29,7 cm avec double interligne et marge de 5 cm.
Ils devront comprendre, dans l'ordre :
• Le titre en français et en anglais ;
• Le nom du ou des auteurs avec les prénoms en toutes lettres et l'adresse complète, ou les différentes adresses si nécessaire, sur feuille séparée.
• Un résumé en français et un « abstract » en anglais de 800 signes chacun, au plus. Il devra être indiqué si l'article correspond à un travail original ou à une mise au point ;
• Une version abrégée de 5000 signes, en français et en anglais ;
• Les mots-clés en français et les « key-words », en anglais ;
• Une proposition de titre courant, en français ou en anglais, selon le cas, ne dépassant pas une quarantaine de signes ;
• Le texte proprement dit, avec mise en évidence des sous-titres et paragraphes et mention dans la marge, au crayon, des passages pouvant être composés en petits caractères. Aucune autre indication typographique ne devra être mentionnée, à l'exception des noms latins des organismes, soulignés d'un trait, et des noms d'auteurs, soulignés de deux traits. Les noms d'auteur seront écrits en minuscules.
Les tableaux, numérotés en chiffres romains, seront conçus pour pouvoir être clichés directement par l'imprimeur, le cas échéant.
Les légendes seront fournies en français et en anglais. Elles seront dactylographiées sur des feuilles distinctes, à la suite.

L'illustration, dessins et photographies, sera numérotée en chiffres arabes. Elle devra être conçue en tenant compte du format de la revue, en prévoyant des possibilités suffisantes de réduction, notamment en ce qui concerne les lettres, chiffres et symboles. Seuls les dessins originaux seront acceptés. Les illustrations ne devront pas dépasser le format 40 x 30 cm et être expédiées à plat, non enroulées. La réduction souhaitée pour chacune d'elle sera indiquée au crayon, ainsi que la numérotation. Les légendes seront fournies en français et en anglais. Elles seront dactylographiées sur des feuilles séparées, à la suite.

La bibliographie sera présentée conformément aux modèles suivants :

CHITTY, D., PIMENTEL, D. & KREBS, C.J., 1968.– Food supply of overwintering voles. *J. Anim. Ecol.*, 37 : 113-120.

ARTHUR, W., 1987.– *The niche in competition and evolution.* Wiley and Sons, Chichester : 175 p.

GARAY, I. & NATAF, L., 1982.– Microarthropods as indicators of human trampling in suburban forests. *In :* BORNKAMM, R., LEE, J.A. & SEAWARD, M.R.D. (eds), *Urban Ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford : 201-207.

CLÉMENT, B., 1987.– *Structure et dynamique des communautés et des populations végétales des landes bretonnes*. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université de Rennes 1 : 320 p.

Les articles saisis sur micro-ordinateur (MS.DOS ™ ou MACINTOSH™) devront être enregistrés en ASCII ou sous un traitement de texte classique. Les illustrations de type Mac Draw™ ou Illustrator™ peuvent être utilisées.
Ne pas envoyer de texte sous paginateur ni de disquettes 5'1/4 ***de type HD****.*

Les manuscrits sont soumis, sous forme anonyme, à un minimum de deux referees. La durée d'analyse demandée aux referees est d'un mois. En cas de demande de révision majeure (cf. formulaire d'analyse), la version corrigée est envoyée aux referees pour vérification. L'article est envoyé aux referees dès sa publication.

Les auteurs recevront un seul jeu d'épreuves pour correction. Elles devront être retournées à la Rédaction dans un délai de huit jours, accompagnées de la commande de tirés-à-part (il n'est pas fourni de tirés-à-part gratuits). Faute d'un retour dans ce délai, la Rédaction procédera à la correction des épreuves et il ne sera pas commandé de tirés-à-part. Seules les erreurs typographiques devront être corrigées ; aucune correction d'auteur ne sera acceptée. En tout état de cause, toute modification (ou addition) sera facturée à l'auteur. Les frais de clichage des photographies sont à la charge de l'auteur (le cas échéant, en spécifier la commande en même temps que celle des tirés-à-part).
Les résumés de thèses devront être dactylographiés en indiquant, dans l'ordre : le nom et le prénom de l'auteur, le titre de la thèse, son nombre de pages, le type de thèse, l'Université, la date de soutenance, la composition du jury. Les épreuves des résumés de thèses sont corrigées par la Rédaction.

Les textes proposés pour la Tribune, sont en principe publiés directement. Toutefois, la Rédaction se réserve le droit de conseiller aux auteurs les améliorations qui lui semblent nécessaires.

Adhésion à la Société Française d'Écologie/Price for SFE Members (Exclusively)

(Personne physique)	Cotisation & Lettre de la S.F.E.	Cotisation & Lettre SFE + Écologie
FRANCE & C.E.E	200,00 F	450,00 F
ETRANGER hors CEE	200,00 F	500,00 F
Étudiants, Stagiaires étrangers	50,00 F	190,00 F

Abonnement 1996 à Écologie Vol. 27 (1) au Vol. 27 (4)
(Personne morale) **Numéro de Commission Paritaire : 50062**

Tous nos tarifs s'entendent en ***francs français, frais de port inclus.***
Subscriptions are accepted for calendar year only - Cancellations are not accepted - Trimestrial

Prix public	**H.T**	**T.V.A. 2,1 %**	**TOTAL TTC**
FRANCE	535,00 F	11,23 F	546,23 F
CEE	535,00 F		535,00 F
ETRANGER hors CEE	567,00 F		567,00 F

Agence d'abonnement & librairie Française : remise 10% (sur prix public HT)

	H.T	**T.V.A. 2,1 %**	**TOTAL TTC**
FRANCE	481,50 F	10,11 F	491,61 F
CEE	481,50 F	10,11 F	491,61 F
ETRANGER hors CEE	510,00 F	10,71 F	520,71 F

Agence d'abonnement & librairie CEE et hors CEE : remise 10% (sur prix public HT)

Adresse de livraison	**H.T**	**T.V.A. 2,1 %**	**TOTAL TTC**
FRANCE	481,50 F	10,11 F	491,61 F
CEE	481,50 F		481,50 F
ETRANGER hors CEE	510,00 F		510,00 F

SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ÉCOLOGIE
c/o M. ECHAUBARD,
Laboratoire de Zoologie-Institut National Agronomique
16, rue Claude-Bernard - 75231 Paris cedex 05
Tél. 33-1-44.08.18.22. - Télécopie : 33-1-44.08.18.56.
C.C.P. 30 279 62 D LA SOURCE

Les correspondances concernant la revue devront être adressées directement à :

ÉCOLOGIE
Laboratoire d'Écologie Générale
Muséum National d'Histoire Naturelle
4, avenue du Petit-Château - 91800 Brunoy
Téléphone : 33-1-60.47.92.00.
Télécopie : 33-1-60.46.57.19.

IMPORTANT : *Les cotisations et les abonnements doivent être payés directement et de façon impersonnelle à la* ***SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ÉCOLOGIE.***

Source : MNHN

LOUIS-JEAN
avenue d'Embrun, 05003 GAP cedex
Tél. : 04.92.53.17.00
Dépôt légal : 16 — Janvier 1997
Imprimé en France

Source : MNHN

Source : MNHN

ÉCOLOGIE

— TOME 27 - N° 4 —
Décembre 1996

SOMMAIRE

Bérard, A. & Pelte, T.– Effets de l'atrazine sur l'évolution des peuplements phytoplanctoniques lacustres - Étude en enceintes expérimentales *in situ* **195**

Robach, F., Merlin S. , Rolland, T. & Trémolières M.– Assimilation et stockage du phosphore par des macrophytes aquatiques bioindicateurs du niveau trophique de l'eau .. **203**

Rolland, T., Robach, F., Trémolières, M. & Dester S.– L'activité nitrate réductase chez les plantes aquatiques : un outil biologique du suivi de la contamination ammoniacale .. **215**

Thoen, D., Roussel, L. & Nicolas, J.– Étude des groupements de macrophytes vasculaires aquatiques de la Semois en rapport avec la qualité globale des eaux et du milieu **223**

Haury, J., Peltre, M.-C., Muller, S., Trémolières, M., Barbe, J., Dutartre, A. & Guerlesquin, M.– Des indices macrophytiques pour estimer la qualité des cours d'eau français : premières propositions **233**

Daniel, H. & Haury, J.– Écologie des macrophytes aquatiques d'une rivière armoricaine (le Scorff, Bretagne sud, France), application à la bioindication **245**

Baron, J., Lesavre, J. & Schwartzbrod, L.– Tentative d'utilisation de *Dreissena polymorpha* comme bioindicateur de pollution virale des effluents de station d'épuration .. **257**

Castro, L., Carmo, C., Peres, I. & Pihan, J.-C.– Évaluation du mollusque bivalve *Ruditapes decussatus* L. comme bioindicateur : accumulation et décontamination du zinc et du plomb **263**

Costa, F.O., Correia, A.D. & Costa, M.H.– Sensibilité d'un amphipode marin vis-à-vis des facteurs de l'environnement et du cuivre dans les sédiments **269**

Lerond, M., Van Haluwyn, C. & Cuny, D.– Lichens et bioindication, réalisations concrètes et exigences éthiques **277**

Déruelle, S.– La fiabilité des lichens comme bioindicateurs de la pollution plombique ... **285**

CONTENTS

Bérard, A. & Pelte, T.– Effects of Atrazine on the evolution of lacustrine phytoplanktonic communities - *In situ* study with experimental enclosures. **195**

Robach, F., Merlin, S., Rolland, T. & Trémolières, M.– Ecophysiological approach of water quality bioindication using aquatic plant materials: the role of phosphorus ... **203**

Rolland, T., Robach, F., Trémolières, M. & Dester, S.– Nitrate reductase activity in aquatic plants as an indicator of ammonia nitrogen contamination **215**

Thoen, D., Roussel, L. & Nicolas, J.– Study of the aquatic vascular macrophyte vegetation of the Semois river in relation with the global quality of water and of aquatic environment **223**

Haury, J., Peltre, M.-C., Muller, S., Trémolières, M., Barbe, J., Dutartre, A. & Guerlesquin, M.– Macrophyte indices for the assessment of stream water quality in France: preliminary proposals **233**

Daniel, H. & Haury, J.– Ecology of aquatic macrophytes in an Armorican river (the River Scorff, Southern Brittany, France), application to bioindication **245**

Baron, J., Lesavre, J. & Schwartzbrod, L.– Attempts to use *Dreissena polymorpha* as a bioindicator of viral pollution of sewage treatment plant effluents **257**

Castro, L., Carmo, C., Peres, I. & Pihan, J.-C.– The Clam, *Ruditapes decussatus* L., as a pollution bioindicator : zinc and lead accumulation and depuration **263**

Costa, F.O., Correia, A.D. & Costa, M.H.– Sensitivity of a marine amphipod to non-contaminant variables and to copper in the sediment **269**

Lerond, M., Van Haluwyn, C. & Cuny, D.– Lichens and bioindication : practical applications and ethical comments **277**

Déruelle S.– The reliability of lichens as biomonitors of lead pollution **285**

***ÉCOLOGIE* est indexée dans les bases de données BIOSIS, Pascal et Cambridge Scientific Abstracts (Animal behavior, Ecology, Entomology, Oceanic et Water Ressources Abstracts)**

Source : MNHN